

UNIVERSIDAD DE CORDOBA

Programa de doctorado:

Biociencias y ciencias agroalimentarias

Título de la Tesis

Evolución de pacientes con sobrepeso u obesos tratados farmacológicamente con *Garcinia cambogia* y glucomanan y la influencia de la presencia de los polimorfismos FTO (rs9939609; A/T) PLIN4 (11482g>a), y ADRB3 (trp64arg) en este tratamiento.

Outcome of patients overweight or obese pharmacologically treated with *Garcinia cambogia* and Glucomanan and influence of presence of polymorphisms FTO (rs9939609; A/T) PLIN4 (11482g>a), and ADRB3 (Trp64Arg) in this treatment.

Directores

Prof. Dr. Rafael Moreno Rojas

Profa. Dra. María S. Poblador Fernández

Dr. D. Juan Manuel Ramírez Pistón

Autora de la Tesis

Andrea Maia Landim

Fecha de depósito en el Idep:

TITULO: *Evolución de pacientes con sobrepeso u obesos tratados farmacológicamente con Garcinia cambogia y glucomanan y la influencia de la presencia de los polimorfismos FTO (rs9939609; A/T) PLIN4 (11482g>a), y ADRB3 (trp64arg) en este tratamiento*

AUTOR: *Andrea Maia Landim*

© Edita: UCOPress. 2019
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/>
ucopress@uco.es

Abreviaturas

AMP: Adenosin monofosfato

AHC: Ácido hidroxí-cítrico

cAMP: AMP cíclico

DNA: Ácido desoxirribolucleico

RNA: Ácido Ribonucleico

FTO: Proteína asociada a la masa grasa y obesidad (*Fat mass and obesity associated protein*)

Pb. Pares de bases

GC: *Garcinia cambogia*

GNN: Glucomanan

SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido (*Single nucleotide polymorphism*)



TÍTULO DE LA TESIS: *Evolución de pacientes con sobrepeso u obesos tratados farmacológicamente con Garcinia cambogia y Glucomanan y la influencia de la presencia de los polimorfismos FTO (rs9939609;A/T), PLIN4 (11482G>A) y ADRB3 Trp64Arg en este tratamiento.*

DOCTORANDO/A: ANDREA MAIA LANDIM

1.1.1.1.1 INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

La tesis que presenta la doctoranda D^a Andrea Maia Landim corresponde a la investigación realizada durante mucho tiempo y con mucho esfuerzo personal y de medios.

El tema es suficientemente atractivo y de vigencia permanente por referirse a una situación y patología que afecta a todo el mundo.

La necesaria revisión e introducción, la metodología perfectamente definida, las técnicas empleadas son específicas para esos resultados y el estudio estadístico llevado a cabo, no sólo cumplen todos los requisitos legales, sino que está todo perfectamente definido y llevado a cabo.

Los resultados están muy bien definidos y los numerosos datos y análisis llevados a cabo hacen que sean substancialmente completos. Acompañados de una rigurosa discusión, hacen que las conclusiones sean correctas, coherente y lógicas.

Bibliografía muy adecuada.

Fruto de todo esto, el contenido de la tesis ha sido parcialmente publicado en la revista BMC Complementary and Alternative Medicine. 2018; 18(1): 26; doi: 10.1186/s12906-018-2099-7, con el título "Long-term effects of Garcinia cambogia/glucomannan on weight loss in people with obesity, PLIN4, FTO and Trp64Arg polymorphisms".

En fase de revisión en la revista The Journal of Herbal Medicine, hay un segundo artículo titulado *Combined treatment of Garcinia cambogia and Glucomannan reduce weight, change body composition and ameliorate lipid and glucose blood profiles in people with overweight or obesity.*

Por todo lo anterior, se autoriza la presentación de la tesis doctoral

Córdoba, 25 de Octubre de 2018

Firma de los directores

Prof. Dr. Rafael Moreno Rojas

Fdo.: Dr. Juan Manuel Ramírez Pistón Fdo.: Profa. Dra. María S. Poblador Fernández

Resumen

El número de personas con sobrepeso y obesidad ha alcanzado números compatibles con una epidemia no solo en los países desarrollados sino en todo el mundo y se estimaron en alrededor de 1.400 millones en 2013. La obesidad y el sobrepeso se han asociado con varios trastornos metabólicos como diabetes, hipertensión, dislipidemias, enfermedades cardiovasculares, apnea del sueño, osteoartritis, osteoporosis e incluso aumentan el riesgo de padecer cáncer. El tratamiento de esta enfermedad consiste en el uso de la restricción calórica, y ejercicio (preferiblemente aeróbico) y en algunos casos en combinación con la farmacoterapia. Sin embargo, muchas veces la dietas y el ejercicio fracasan en su objetivo y la farmacoterapia tiene algunas desventajas como los efectos secundarios. Entre las diferentes alternativas para controlar el peso, el uso de algunos extractos de plantas como son los provenientes de *Garcinia cambogia* (GC) y el glucomanano (GNN) está ganando aceptación. El objetivo principal de este trabajo es conocer los efectos de una dieta estandarizada asociada a un tratamiento farmacológico sobre la respuesta metabólica en un grupo de individuos con sobrepeso u obesidad. De manera secundaria se quiere determinar la importancia de presencia de los de polimorfismos para: PLIN4 -11482G>A, el gen de la masa grasa y obesidad asociada (FTO) -rs9939609 A / T- y receptor adrenérgico beta 3 (ADRB3) -Trp64Arg. Para ello se trataron 214 sujetos con sobrepeso u obesidad con GC y GNN (500 mg dos veces al día, cada uno) durante 6 meses evaluando el peso, la masa grasa, la grasa visceral, la tasa metabólica basal y los perfiles sanguíneos de lípidos y glucosa

comparándolos con los valores basales. Nuestros resultados demostraron que el tratamiento produjo la pérdida de peso, la reducción de la grasa, disminución de los lípidos y normalización de los perfiles de glucosa en sangre al tiempo que aumenta la tasa metabólica basal. Además, estos resultados fueron independientes del sexo, la edad o sufrir hipertensión, la diabetes mellitus tipo 2 o la dislipidemia. Es cierto que las reducciones mencionadas se vieron atenuadas en los portadores de polimorfismos para PLIN4, FTO y Trp64Arg. Por ello consideramos que un estudio genético del paciente previo al tratamiento, para averiguar de la presencia de estos los polimorfismos, es aconsejable para establecer un ajuste en el tratamiento y así obtener una mejor respuesta.

Abstract

The number of people with overweight and obesity has reached numbers compatible with an epidemic not only in developed countries but throughout the world and were estimated at around 1,400 million in 2013. Obesity and overweight have been associated with several metabolic disorders such as diabetes, hypertension, dyslipidemias, cardiovascular diseases, sleep apnea, osteoarthritis, osteoporosis and even increase the risk of cancer. The treatment of this disease consists of the use of caloric restriction, and exercise (preferably aerobic) and in some cases in combination with pharmacotherapy. However, many times diets and exercise fail in their goal and pharmacotherapy has some disadvantages such as side effects. Among the different alternatives to control weight, the use of some plant extracts such as those from *Garcinia cambogia* (GC) and glucomannan (GNN) is gaining acceptance. The main objective of this work is to know the effects of a standardized diet associated with a pharmacological treatment on the metabolic response in a group of overweight or obese individuals. Secondly we want to determine the importance of the presence of polymorphisms for: PLIN4 -11482G> A, the fat mass and associated obesity (FTO) -rs9939609 A / T- and beta 3 adrenergic receptor (ADRB3) - Trp64Arg . To this end, 214 overweight or obese subjects were treated with GC and GNN (500 mg twice daily, each) for 6 months evaluating weight, fat mass, visceral fat, basal metabolic rate and blood lipid profiles. and glucose comparing them with the basal values. Our results showed that the treatment produced weight loss, reduced fat, decreased lipids and normalized blood glucose profiles while increasing the basal metabolic rate. In addition, these results were

independent of sex, age or suffering from hypertension, type 2 diabetes mellitus or dyslipidemia. It is true that the mentioned reductions were attenuated in the polymorphism carriers for PLIN4, FTO and Trp64Arg. Therefore, we consider that a genetic study of the patient prior to treatment, to find out the presence of these polymorphisms, is advisable to establish an adjustment in the treatment and thus obtain a better response.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	10
1.2. Obesidad.....	12
1.2.1. Concepto.....	12
1.2.2. Epidemiología.....	14
1.2.3. Diagnóstico.....	17
1.2.4 La antropometría.....	19
1.2.5. La impedancia bioeléctrica.....	20
1.2.6 El consumo energético en reposo.....	24
1.2.7. Etiopatogenia y la importancia de los polimorfismos FTO (rs9939609;A/T), PLIN4 (11482G>A), y ADRB3 (Trp64Arg).....	26
1.2.8 Tratamiento.....	32
1.2.9 Mortalidad. comorbilidades y coste sócio-económico de la obesidad y el sobrepeso	35
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	37
3. DISEÑO EXPERIMENTAL Y METODOLOGIA:.....	38
3.1 Población en estudio.....	38
3.2 Reclutamiento de pacientes y valoración inicial.....	39
3.3 Diseño Experimental.....	40
3.4 Tratamiento con GC y GNN.....	41
3.5 Métodos y análisis de variables en estudio:.....	41
3.5.1. Composición corporal.....	41
3.5.2. Determinaciones Bioquímicas.....	42
3.5.3 Análisis genético.....	44
3.5.4 Estadística.....	45
3.6. Aspectos éticos:.....	45
4 RESULTADOS.....	46
4.1 Descripción de la muestra.....	46
4.10 Efectos de la presencia de los polimorfismos PLIN4, FTO and ADRB3 (Trp64Arg) en el resultados final del tratamiento.....	58
4.10.1. Influencia de la presencia de polimorfismos sobre el peso en los pacientes tratados con GC y GNN.....	58
4.10.2. Influencia de la presencia de polimorfismos sobre la grasa visceral en los pacientes tratados con GC y GNN.....	59
4.10.3. Influencia de la presencia de polimorfismos sobre la masa grasa los pacientes tratados con GC y GNN.....	60
4.10.4. Influencia de la presencia de polimorfismos sobre el BMR, los niveles de Glucosa, Colesterol y Trigliceridos en los pacientes tratados con GC y GNN.....	61
4.2 Efectos del tratamiento en el peso.....	48
4.3 Efectos del tratamiento en el Metabolismo basal.....	49
4.4 Efectos del tratamiento en la masa grasa.....	49
4.5 Efectos de los tratamientos en la grasa visceral.....	50
4.6 Efectos de los tratamientos sobre el nivel de glucosa.....	52
4.7 Efectos de los tratamientos sobre el nivel de Trigliceridos.....	52
4.8 Efectos de los tratamientos sobre el nivel de colesterol.....	53

4.9 Efectos del sexo, edad y enfermedad previa de los pacientes sobre el resultado obtenido.	55
4.9.1 Análisis de la interacción del sexo con el tratamiento y los resultados finales.....	55
4.9.2 Análisis de la interacción de la edad con el tratamiento y los resultados finales.	56
4.9.3 Análisis de la interacción de la enfermedad con el tratamiento y los resultados finales	57
5. DISCUSIÓN	63
6. CONCLUSIONES.....	69
7. BIBLIOGRAFÍA	69
8 ANEXOS.....	86
8.1 ANEXO I – PROTOCOLO CLÍNICO	86
8.2 ANEXO II– FICHA HISTORIAL CLINICO (INDIVIDUAL).....	94
8.3ANEXO III – ORGANOGRAMA DEL ESTUDIO DE LA PERDIDA DE PESO	98
8.4 PUBLICACIONES DERIVADAS DEL ESTUDIO.....	99

1. INTRODUCCIÓN

Según la organización mundial de la salud (OMS) la obesidad se define como una enfermedad crónica, caracterizada por el aumento de la grasa corporal, asociada a un mayor riesgo de sufrir enfermedades (OMS 2012a). Esta enfermedad está extendida a nivel mundial y se estima que para el año 2030 uno de cada cinco habitantes del planeta sufra de obesidad y el 40 % de la población mundial tenga sobrepeso (Kelly et al. 2008).

Habitualmente, el origen de la obesidad se ha atribuido a una excesiva acumulación de grasa corporal por un desequilibrio entre la ingesta calórica y el gasto energético (Kelly et al. 2008). Sin embargo, también confluyen otras causas, como son factores genéticos, sociales, psiquiátricos o farmacológicos (Allison et al. 1996; Speliotes et al. 2010; Kelly et al. 2008).

La influencia de la genética en el desarrollo de la obesidad se ha puesto de manifiesto en numerosos estudios (Speliotes et al. 2010; Hindorff et al. 2009; Rao et al. 2014). Un meta-análisis que sintetiza el resultado de varios de ellos sugiere que aproximadamente el 50-70% de la variación del índice de masa corpórea (IMC) es atribuible a diferencias genéticas (Allison et al. 1996).

Es evidente que gracias a los análisis de segregación y del escaneo amplio del genoma humano se obtienen que la expresión de varios genes en combinación con el medio ambiente pueden favorecer la aparición de la obesidad (Arner 2000). Así, estudios en animales han demostrado que un grupo de genes controla la eficiencia de la utilización calórica, mientras que otros genes son reconocidos por su efecto en la obesidad inducida por la dieta (Martinez 2000).

En este sentido, existen más de 430 regiones cromosómicas implicadas en la regulación de la ingesta o en el control del gasto energético y de diferentes rutas metabólicas que potencialmente podrían estar asociadas con la obesidad, la resistencia a la insulina y la aparición del síndrome metabólico (Prentice & Jebb 1995; Hill et al. 2003).

Por lo tanto, los conocimientos sobre de las variaciones genéticas que puedan hacer a un sujeto más susceptible a desarrollar obesidad, tiene importantes implicaciones para la prevención y tratamiento de la esta epidemia (Ochoa et al. 2004). De estos hallazgos pueden derivarse intervenciones terapéuticas tan importantes como es el consejo genético para aquellos individuos que manifiesten una mayor predisposición a sufrir esta enfermedad por su perfil genético (Clément & Ferré 2003; Snyder et al. 2004; Farooqi & O'Rahilly 2004; Rankinen et al. 2006). Hay que destacar que relación exacta entre una dieta estandarizada, el tratamiento farmacológico, la importancia genética en el metabolismo y el desarrollo de la obesidad, no se han estudiado en profundidad por lo que entendemos que sus estudios confieren originalidad e interés al presente trabajo.

Por tanto, sería de interés conocer la respuesta metabólica de un individuo a una dieta estandarizada asociada a un tratamiento farmacológico por un período de tiempo, y si conducirían a un estado de pérdida o no de peso. Además sería así mismo interesante estudiar si estos resultados podrían estar relacionados con la existencia de algún polimorfismo genético de genes implicados tanto en la ingesta, como en el control del gasto energético y en el metabolismo (Barsh et al. 2000; Spiegelman & Flier 2001; O'Rahilly et al. 2003).

El conocimiento de estos genes y su funcionamiento con respecto a lo citado anteriormente, haría posible el consejo genético para los individuos susceptibles de sufrir obesidad en el futuro, así como tendría una gran importancia para el tratamiento del sobrepeso u de la obesidad.

1.2. Obesidad

1.2.1. Concepto

La palabra obesidad viene del latín *obesitas* “grasa, corpulencia”, de *obesus* “que comió su propia grasa”, participio pasado de *obdere* “comer todo, devorar”, de *ob* “superior” y *edere* “comer”. La obesidad es definida como la acumulación excesiva de grasa corporal derivada de un desequilibrio crónico entre la energía ingerida y la energía gastada. En este desequilibrio pueden estar implicados diversos factores relacionados con el estilo de vida, alteraciones neuroendocrinas, y el componente genético. La genética del individuo constituye un factor determinante de algunas enfermedades congénitas y un elemento de riesgo para diversas enfermedades crónicas (Marques-Lopes et al. 2004).

Considerada como una pandemia en estos momentos fuera de control, la obesidad es una enfermedad inflamatoria, grave y compleja, caracterizada por diversas alteraciones metabólicas que conducen a un aumento de peso con valores por encima del promedio para la altura del individuo, presentando como manifestación final el exceso del tejido adiposo, siendo un factor de riesgo para enfermedades crónicas y degenerativas y considerándose uno de los principales problemas de salud pública en el mundo (OMS 2012). La obesidad es una patología compleja y que implica procesos neurológicos, patológicos,

endócrinos, metabólicos, psicológicos, genéticos, sociales, culturales y ambientales, que incluyen sedentarismo, hábitos alimentares inadecuados y el tabaquismo (Isosaki & Cardoso 2009).

El reciente aumento en la prevalencia de obesidad se puede atribuir a cambios en el estilo de vida, como el aumento del sedentarismo y el consumo de alimentos hipercalóricos. De hecho, la prevalencia del sobrepeso y de la obesidad han aumentado en tasas alarmantes, incluyendo países desarrollados y subdesarrollados (Williams et al. 2015). Sin embargo, se ha demostrado que los factores genéticos están muy asociados a su desarrollo. La importancia de tales factores se hace evidente en las formas monogénicas de obesidad (Delrue & Michaud 2004).

Así por ejemplo en Brasil, los cambios demográficos, socioeconómicos y epidemiológicos recientes, han permitido que ocurriera la denominada transición en los patrones nutricionales, con la disminución progresiva de la desnutrición y el aumento de la obesidad. Ello se convierte en un problema de salud pública, una vez que las consecuencias de la obesidad para la salud son muchas, y aumentan el riesgo de mortalidad asociado a graves enfermedades debilitantes y que afectan directamente la calidad de vida de estos individuos (Pereira et al. 2003).

La obesidad no es una enfermedad singular, sino un grupo heterogéneo de enfermedades con múltiples causas que resultan en el fenotipo obeso. El balance energético positivo, que ocurre cuando el valor calórico ingerido es superior al gastado, contribuye de manera notable al desarrollo de la obesidad, promoviendo aumento en los depósitos energéticos en forma de grasa y por

tanto aumentado el peso corporal. Que exista de manera mantenida un balance calórico positivo puede ser consecuencia tanto de aumento en la ingestión calórica, como reducción del gasto calórico o de una combinación de ambos factores (Williams et al. 2015; Pereira et al. 2003).

1.2.2. Epidemiología

La obesidad constituye un factor de riesgo frente a numerosas enfermedades crónicas, siendo una enfermedad susceptible de poder prevenirse mediante cambios en los hábitos de alimentación y actividad física. En muchos países, la prevalencia de obesidad ha aumentado notablemente, debido a cambios sociales que han llevado a una mayor disponibilidad de alimentos, así como un progresivo descenso de la actividad física.

Desde 1960 ha habido un aumento progresivo de la prevalencia de obesidad en diversas poblaciones del mundo, llegando, en los Estados Unidos de América del Norte (EE.UU.) a tasas verdaderamente alarmantes. En un estudio realizado por el National Institute of Health and Nutrition Examination Survey, se mostró que el 22% de la población estadounidense adulta es obesa, definida esta por índice de masa corporal ($IMC = \text{peso}/\text{cuadrado de la altura}$) superior al 27,8 para hombres y al 27,3 para mujeres. Podemos decir que la incidencia de obesidad se duplicó en los últimos 30 años. Además, entre un 15 a un 25 % a veinticinco por ciento de los niños adolescentes en los EE.UU. son obesos. Además se estima que en los últimos 10 años, ha habido aumento de un 50% en esas cifras, así por ejemplo solo en Inglaterra, la proporción de obesos duplicó entre 1980 y 1991 (Damiani et al. 2002).

Según un estudio reciente de la OMS, en 2016 en el mundo se estima que existen 1900 millones de adultos que sufren sobrepeso, siendo 650 de ellos obesos, lo cual representa el 13 % de la población mundial. Así, el número de personas con sobrepeso u obesidad se ha triplicado desde 1975. Otro dato preocupante en referencia a esta enfermedad es que aproximadamente 40 millones de niños por debajo de 5 años también sufren sobrepeso u obesidad, siendo la prevalencia de estas dos enfermedades de un 4% de la población para niños y jóvenes de 5 a 19 años. Con respecto a las distintas regiones mundiales que tiene en consideración la OMS, los números de estas dos enfermedades también se están incrementando de manera alarmante. En Europa los números son realmente preocupantes con el 50 % de la población en sobrepeso siendo el 20% obesos y con 1 de cada 3 niño por debajo de 11 años siendo obesos o padeciendo sobrepeso. Así en la región del mediterráneo oriental y oriente medio, países como Kuwait, Egipto, Emiratos Árabes, Arabia saudí, Jordania y Bahrein tienen una prevalencia que varía del 74% al 86 % en mujeres y 69% al 77% en hombres (disponible en <http://www.who.int/chp/steps/riskfactor/en/index.htm>).

Siguiendo las mismas fuentes, en el caso español los números no difieren mucho de las naciones de su entorno teniendo una prevalencia de la población adulta de un 53 % de personas con sobrepeso siendo un 17 % obesos y entre los adolescentes del 30 % de sobrepeso. Con respecto a Brasil, de acuerdo con datos del Instituto Brasileño de geografía y estadística en el 2004, sobre una población de 95,5 millones de personas de 20 años o más de edad había 3,8 millones de personas (4,0%) con déficit de peso y 38,8 millones (40,6%) con

exceso de peso, de las que 10,5 millones se consideran obesos. Datos más recientes del 2011 revelan que en el 48% de la población padecía de sobrepeso (33%) u obesidad (15%) teniendo uno de cada 3 niños entre 5 y 9 años sobrepeso (Arbex et al. 2014).

Como ya hemos mencionado la genética es un factor determinante a la hora de favorecer la obesidad. Así, las herencias estimadas para rasgos vinculados a la obesidad son consistentes entre nigerianos, jamaicanos y afroamericanos estadounidenses, a pesar de las diferentes condiciones ambientales y de prevalencia de obesidad: 5% en Nigeria, 23% en Jamaica y 39% en los Estados Unidos (Luke et al. 1997).

También hay que destacar que la incidencia de la obesidad de mujeres obesas ha crecido rápidamente tanto en países desarrollados como en desarrollo, incluso durante la gestación, considerándose como un problema de salud pública en Brasil (Santos et al. 2007). En la gestación, la obesidad puede desarrollarse o agravarse en caso de su pre-existencia, aumentando el riesgo de enfermedades que pueden llevar la muerte de la gestante y del feto (Mitanez & Chavatte-Palmer 2018).

1.2.3. Diagnóstico

La obesidad se caracteriza por un exceso de tejido adiposo, siendo el índice de masa corporal (IMC) que se define como el peso en kg dividido por el cuadrado de la altura del individuo en metros. El IMC es la medida clínica más utilizada para caracterizarla, con escalas por edad; pero este índice no distingue el tejido graso del no graso (Wells & Fewtrell 2005).

Según Garrow y Webster (Garrow & Webster 1985), podemos clasificar a los sujetos en cuatro grados, de acuerdo al IMC (Tabla 1). Además, es útil evaluar la composición corporal para precisar correctamente un diagnóstico de obesidad.

Una clasificación alternativa, según la *American Hearth Association* (Jensen et al. 2014), clasifica a los obesos en subgrupos de cinco unidades de IMC, relacionando su grado de obesidad con el riesgo de presentar complicaciones de salud (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificaciones de la obesidad

SEGÚN GARROW y WELLS			
	GRADO	IMC	
Grado 0:	normopeso	20 - 24.9	
Grado I:	sobrepeso	25 - 29.9	
Grado II:	obesidad	30 - 39.9	
Grado III:	obesidad mórbida	>40	

SEGÚN AMERICAN HEART ASSOCIATION			
	GRADO	IMC	RIESGO
Clase 0	normal	20 - 24.9	Muy bajo
Clase I	obesidad leve	25 - 29.9	Bajo
Clase II	obesidad moderada	30 - 34.9	Moderado
Clase III	obesidad severa	35 - 39.9	Alto
Clase IV	obesidad mórbida	>40	Muy alto

Existen otros métodos para evaluar el grado de obesidad y la cantidad de grasa corporal, con grandes diferencias en el coste, aplicabilidad y exactitud. Entre estos métodos se encuentran el índice de peso para la talla o peso relativo, medición de pliegues cutáneos, medición de circunferencias corporales, impedanciometría bioeléctrica, ultrasonido y la tomografía axial computada. Entre los métodos destinados casi exclusivamente al área de investigación, tales como la densitometría por inmersión, medición de potasio 40 corporal, estudios de conductividad (TOBEC), resonancia magnética nuclear, medición de agua corporal total y absorciometría dual por rayos X. Un método muy utilizado en el ámbito de la investigación es el *dual energy x-ray absorptiometry* (DXA scan),

que mide la masa y el porcentaje de grasa corporal (masa de grasa dividido por masa de grasa más masa seca más contenido mineral óseo).

Entre estas técnicas, las que requieren la cooperación del individuo son inviables para uso en la infancia y no existe consenso sobre el uso de DXA para niños, incluso aun siendo bajos los niveles de irradiación a los que se somete al sujeto. Sin embargo La técnica de RMN viene utilizándose con éxito en recién-nacidos, aunque requiere el acceso a centros especializados (Harrington et al. 2004)

1.2.4 La antropometría

Es una rama de las ciencias biológicas que tiene como objetivo el estudio de los caracteres medibles de la morfología humana. Conforme lo define Sobral "el método antropométrico tiene como base la medida sistemática y en el análisis cuantitativo de las variaciones dimensionales del cuerpo humano" (Sobral 1985). El tamaño físico de una población dada (Figura 1), puede ser determinado a través de la medición de alturas, anchos y circunferencias corpóreas, y los resultados obtenidos pueden ser utilizados para el diseño de puestos de trabajo, equipamientos y productos que sirvan para las dimensiones de población (Madden & Smith 2016; Santos & Melo 2000).

La antropometría se divide en: somatometría que consiste en la evaluación de las dimensiones corporales del individuo; cefalometría que se ocupa del estudio de las medidas de la cabeza del individuo; osteometría que tiene como finalidad el estudio de los huesos craneales; pelvimetría que se

ocupa de las medidas pélvicas y la odontometría que se ocupa del estudio de las dimensiones de los dientes y de las áreas dentarias (Santos & Melo 2000). La evaluación antropométrica nos aporta informaciones muy valiosas para la predicción y la estimación de diversas medida corporales y sus diferencias entre distintos tipos de individuos como sedentarios, atletas, en edad de crecimiento desarrollo o en el envejecimiento (Santos & Melo 2000).

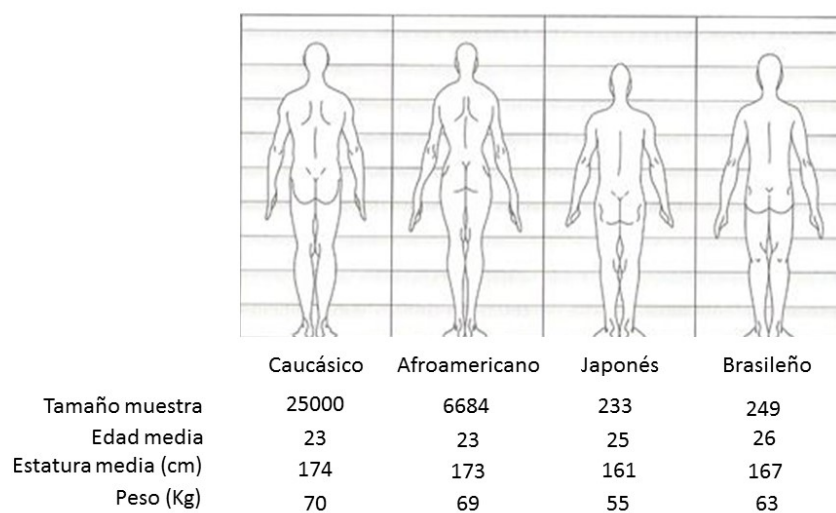


Figura 1. Representación de las diferencias entre las proporciones corporales entre individuos de diferentes etnias. Modificado de Iida 2005 (Iida 2005).

1.2.5. La impedancia bioeléctrica

Impedancia bioeléctrica o "bioimpedancia" es un método no-invasivo y rápido de análisis de los compartimientos corporales, especialmente masa magra y masa grasa. Este método se basa en medir la resistencia que un cuerpo opone al paso de una corriente. Al conocerse el potencial aplicado podemos usar la Ley de Ohm ($V=IR$, V es el voltaje, I la intensidad de corriente y R la

resistencia al paso de la corriente) para conocer la impedancia del cuerpo. En función de esa impedancia se puede determinar la cantidad de grasa que puede haber, ya que ese valor relaciona de manera aproximada la proporción de grasa y músculo que está presente (Lukaski 1987). Se usan corrientes eléctricas de baja intensidad (500 a 800 μA) y de alta frecuencia (50 kHz) a través de un medio un conductor, en este caso el cuerpo humano. la medida de la impedancia es la resistencia de ese conductor al paso de la corriente, y se expresa por la raíz cuadrado de la suma de los cuadrados de la resistencia y de la reactancia asociadas al circuito como se muestra en la figura 2 (Nyober 1959; Coppini & Waitzberg 2000).

$$Z = \sqrt{R^2 + X_c^2}$$

Figura 2: Fórmula de la impedancia. donde Z es la impedancia, R es la resistencia y X_c es la reactancia asociada al circuito.

En los seres humanos, la reactancia es un indicador de la masa corpórea delgada e intracelular. Los tejidos delgados son altamente conductores de corriente eléctrica, por contener gran cantidad de agua y electrolitos (y por lo tanto presentan una baja resistencia). Los tejidos grasos y los huesos por el

contrario, son pobres conductores y ofrecen una mayor resistencia eléctrica (Nyober 1959; Coppini & Waitzberg 2000).

La impedanciometría bioeléctrica tetrapolar es una técnica indirecta de medición de la composición corporal que se basa en que la grasa es un muy mal conductor de la corriente eléctrica, a diferencia de la masa magra que por encontrarse en una solución hidroelectrolítica es un buen conductor. Este método mide la impedancia a una o múltiples frecuencias de corriente alterna, creándose ecuaciones de regresión en base al sexo, edad, talla y peso. Es un procedimiento inocuo, rápido, no invasivo, de bajo costo y con una buena correlación con técnicas más complejas. Este examen nos informa de la cantidad de agua y masa grasa que tiene el individuo. A pesar de que no es totalmente exacto para evaluar cambios bruscos de peso corporal, es de particular utilidad en población obesa por la dificultad de emplear otros métodos que requieren de un observador entrenado. Un problema a tener en cuenta con este método es que la cantidad que se haya bebido de agua antes de la prueba afecta al resultado al ser esta una buena conductora de la electricidad en el cuerpo humano. Por ello, cuanta más se haya bebido, menor porcentaje de grasa se obtendrá (Lukaski 1987).

El análisis de impedancia bioeléctrica es un método que se suele usar para conocer la composición aproximada de un cuerpo. Desde la llegada de los primeros dispositivos comerciales a mediados de los años 80 esta técnica se ha hecho cada vez más popular debido a su facilidad de uso, portabilidad de los equipos y a su bajo coste en comparación con otros métodos de medición corporal.

La tasa metabólica basal (TMB) se mide por la mañana, intentando que con el cuerpo se encuentre en un estado de descanso físico y mental completo, después de que el sujeto se haya despertado y está en estado de postabsorción (10 – 12 horas después de última comida). Esta tasa representa entre el 60–75% del gasto energético total. Mientras que el gasto energético en reposo, se mide en cualquier momento del día y de 3 a 4 horas después de la última comida. Para obtener las medidas, estas son realizadas con el individuo en reposo, con los miembros alejados. Dos electrodos son instalados en el puño y dos en el tobillo. La corriente eléctrica es aplicada y la caída del voltaje es detectada por un aparato llamado pletismógrafo. Así pues, la pequeña corriente pasa entre electrodos colocados cerca de la articulación metacarpo-falanga y entre los procesos estiloides del radio y de la ulna de la superficie dorsal de la mano derecha y cerca de la articulación metatarso-falanga y entre los maléolos medial y lateral en el dorso del pie derecho. Como hemos señalado, la corriente eléctrica se va a transmitir mejor a través del agua y de los electrolitos presentes en el tejido magro, así la resistencia corporal es inversamente proporcional al volumen del agua corporal (Paiva et al. 2002).

El metabolismo basal diario se puede calcular de manera aproximada de la siguiente forma, según Harris-Benedict (Harris & Benedict 1918): para el caso de los hombres: $66,473 + (13,752 \times \text{peso (kg)}) + (5,0033 \times \text{estatura (cm)}) - (6,775 \times \text{edad (años)})$; mientras que para las mujeres: $655.096 + (9,563 \times \text{peso (kg)}) + (1,850 \times \text{estatura (cm)}) - (4,676 \times \text{edad (años)})$.

1.2.6 El consumo energético en reposo

El aumento del gasto energético de reposo (GER) puede contribuir en el control y tratamiento de la obesidad. Varios estudios han mostrado una correlación positiva entre el aumento del GER y la reducción de la masa corporal magra, y negativa con el porcentual de grasa y IMC. Por ello, el aumento de la masa magra a través de la práctica de actividades físicas, puede ser una estrategia para combatir la obesidad. Sin embargo, todavía existen controversias, pues otros estudios demostraron correlación positiva del GER el IMC y el tanto por ciento de grasa (Fett et al. 2006). Por tanto, definir que componente corporal podría estar contribuyendo más en el aumento del GER, pasa a ser muy importante para una buena orientación de individuos que pretenden reducir la grasa corporal.

El metabolismo basal o gasto energético basal es la energía consumida para las actividades mecánicas que brindan sostén a los procesos vitales, como respiración y circulación, se sintetizan constituyentes orgánicos, se bombean iones a través de las membranas y se conserva la temperatura corporal. Es de destacar, que la mitad de la energía consumida se emplea para satisfacer las necesidades metabólicas del sistema nervioso. Los términos TMB y GER, a menudo tienden a confundirse, la diferencia está en la medición de ambos (Byrd-Bredbenner et al. 2010).

La calorimetría indirecta es un método que permite determinar tanto el GER y el Cociente Respiratorio (CR). Se basa en la medición del consumo de O_2 y producción de CO_2 . Los productos finales de oxidación para grasas e

hidratos de carbonos son el CO_2 , H_2O y energía. La oxidación proteica presenta, además, como productos finales, la urea y otros constituyentes nitrogenados.

El CR es la relación entre la producción de CO_2 y el consumo de O_2 . El valor del CR refleja la relación entre oxidación de carbohidratos y grasas, lo cual depende de la composición de la dieta, antecedentes genéticos, sexo, edad, concentración de insulina en el ayuno, y del balance energético.

Por otro lado, el gasto energético es la relación entre el consumo de energía y la energía necesaria para que el organismo funcione. Para que el organismo mantenga su equilibrio, la energía consumida debe de ser igual a la utilizada, o sea que las necesidades energéticas diarias han de ser igual al gasto energético total diario.

La calorimetría indirecta ha permitido establecer que la mayoría de los obesos tienen un gasto energético mayor que los sujetos con peso normal debido a su mayor cantidad de masa grasa, lo cual se revierte con la disminución del peso corporal (Ferrannini 1988). Existen, además, estudios que demuestran las ventajas de medir el gasto energético en obesos por medio de calorimetría indirecta, ya que las fórmulas existentes para el cálculo del gasto energético presentan un alto margen de error (Lam & Ravussin 2017).

También se ha visto que un bajo gasto energético para un determinado peso y composición corporal, representa un factor de riesgo para una eventual recuperación del peso perdido. La evaluación del gasto energético por calorimetría indirecta permite al clínico decidir el aporte calórico y predecir la evolución del paciente, así como también es una herramienta predictiva de la

evolución del peso una vez que éste se haya normalizado (Lam & Ravussin 2017; Reinhardt et al. 2015).

El cuerpo humano gasta la energía a través de varias maneras: en la forma de gasto energético de reposo (GER), actividad voluntaria (física) y el efecto térmico de los alimentos (ETA). Excepto en sujetos extremadamente activos, el GER constituye la menor porción del gasto energético total (GET). Por lo tanto, el conjunto del gasto energético podemos dividirlo en: Tasa metabólica basal, gasto de actividad física, acción dinámica de los alimentos (Mahan & Escott-Stump 1996).

1.2.7. Etiopatogenia y la importancia de los polimorfismos FTO (rs9939609;A/T), PLIN4 (11482G>A), y ADRB3 (Trp64Arg).

La herencia de una característica fenotípica es el resultado tanto del número de genes que intervienen la codificación de dicho rasgo, como de la variación de la expresión de cada uno de los mismos. Tradicionalmente, se usa un modelo ideal para la determinación del componente genético mediante los estudios de la herencia en mellizos monocigóticos que tienen un 100% de sus genes en común y los dicigóticos con un 50%. Tales estudios sugieren que la masa corporal depende entre 40 y 70% del componente genético heredado en mellizos monocigóticos, y de un 35 % a 45% para los dicigóticos. Estos valores no difieren significativamente entre mellizos criados separados o juntos y entre mellizos criados o no por los propios padres (Fernandes et al. 2011). Sin embargo, no todo depende del componente genético con lo que se puede sugerir teóricamente que la obesidad sea un síndrome de etiología múltiple, con la

participación de factores genéticos, fisiológicos, patológicos y ambientales (Figura 3). El inicio del estudio de la genética molecular de la obesidad se da con el clonaje de los genes agouti y leptina. En 1994 se clonó el gen de la leptina, que desencadenó una verdadera revolución en la comprensión de la biología de la obesidad (Zhang et al. 1994). La hormona leptina es producida en el tejido adiposo blanco y su receptor se expresa en varios tejidos, pero sus efectos sobre el peso corpóreo se manifiestan por acción hipotalámica. La leptina es un marcador de la cantidad de tejido adiposo, de modo que con el aumento de la masa adiposa aumenta la producción de leptina, que reduce la ingestión alimentar (vía inhibición de neuropeptídeo Y) y aumenta el gasto energético, lo que tiende a hacer la masa adiposa regresar a su punto de origen (Damiani et al. 2002; Galic et al. 2010; Klempel & Varady 2011).

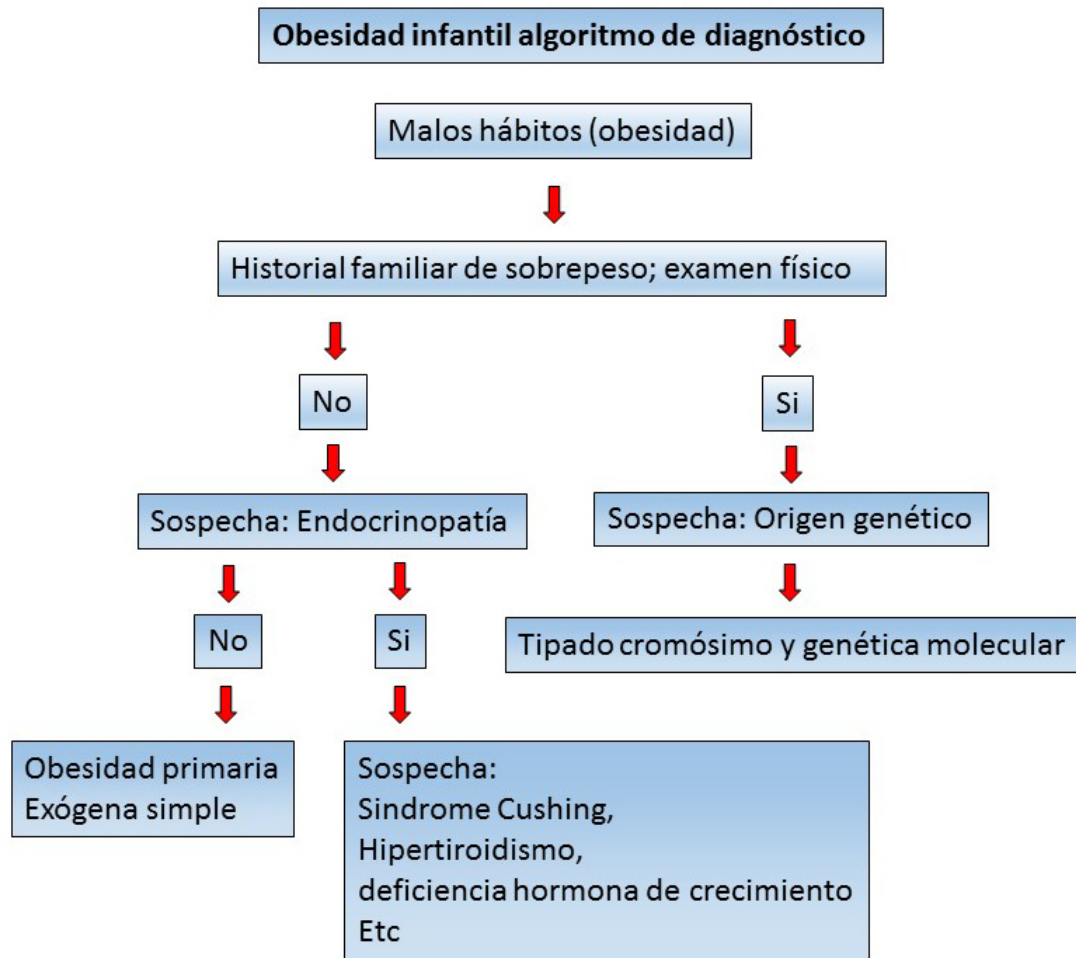


Figura 3. Algoritmo para investigación de la causa de la obesidad adaptado de Damiani et al. (Damiani et al. 2002)

En las personas obesas, sin embargo, el punto de origen es diferente, tal vez debido a la resistencia a la acción de la leptina, ya que la mayoría de las personas obesas presentan exceso y no falta de leptina, sugiriendo que el mecanismo sea más una resistencia a la acción de esta hormona en sus tejidos diana (Damiani et al. 2002).

La fuerte influencia del componente genético a la hora de desarrollar obesidad se ha puesto de manifiesto en numerosos estudios (Arner 2000; Wolf 1997). Un meta-análisis que sintetiza los resultados de varios de ellos sugiere que aproximadamente el 50-70% de variación en el índice de masa corporal

(IMC) es atribuible a diferencias genéticas (Allison et al. 1996). Es decir, esta patología en la mayoría de los casos es una enfermedad poligénica en la que varios polimorfismos genéticos, a través de la interacción con el medio, dan lugar a un depósito excesivo de grasa corporal. Por tanto, es muy probable que no exista un solo tipo de obesidad sino varios genotipos con fenotipos similares. Entre los genes implicados en la etiología de la obesidad se encuentran genes metabólicos, genes que codifican para péptidos que controlan las señales de hambre y saciedad, genes reguladores del gasto energético y genes reguladores del crecimiento y diferenciación de los adipocitos.

La obesidad es entonces una enfermedad de origen multifactorial que puede estar relacionada con la presencia de mutaciones en diversos “genes candidatos”. Los estudios en genes candidatos, en base a su papel en la homeostasis energética, o diferentes análisis completos del genoma, realizados fundamentalmente en familias o en caso/control y en diferentes poblaciones, han permitido identificar más de 430 regiones cromosómicas implicadas en la regulación de la ingesta, en el control del gasto energético o de las diferentes rutas metabólicas que potencialmente podrían estar asociadas con la obesidad, la insulino resistencia y el síndrome metabólico (Prentice & Jebb 1995; Hill et al. 2003).

Uno de esos genes es el gen que codifica para el receptor β 3-adrenérgico (ADRB3) y cuyo polimorfismo Trp64Arg ha sido relacionado con la resistencia a insulina, el riesgo de dislipidemia y la obesidad humana en diferentes estudios, aunque en la literatura aparecen resultados contradictorios en cuanto a esta asociación. Genes de receptores adrenérgicos β 2 y β 3 implicados en la

regulación de la función de las catecolaminas son de especial importancia para combatir la obesidad humana debido al papel central que tienen en el gasto energético, ya sea como hormonas o como neurotransmisores. Esta regulación es afectada en parte por estimulación de la movilización de lípidos mediante la lipólisis en adipocitos (Clément et al. 1995).

La perilipina cuyo gen se encuentra en el cromosoma 15 es un modulador del metabolismo lipídico. El producto de este gen, es una proteína presente en la membrana de las gotas lipídicas de los adipocitos para evitar que sean catabolizadas por la lipasa sensible a hormonas (Hsl). La HsL hidroliza los triglicéridos dando glicerol y ácidos grasos en el proceso denominado lipólisis. Es fosforilada en 6 residuos serina por la enzima PKA tras el estímulo de receptores β -adrenérgicos. La perilipina fosforilada sufre cambios conformacionales, exponiendo los triglicéridos acumulados en las gotas lipídicas a la acción de la HsL (Greenberg et al. 1991). La perilipina es uno de los principales sustratos de la proteína cinasa dependiente de cAMP en los adipocitos. Hsl es el otro sustrato de esa cinasa, pero ante su acción recibe un efecto opuesto en comparación con perilipina. Cuando la perilipina se encuentra fosforilada, Hsl es capaz de penetrar y comenzar a degradar la gota lipídica; en cambio, cuando se encuentra desfosforilada, la perilipina inhibe su lipólisis, actuando como barrera protectora de la gota lipídica. La cantidad de la grasa almacenada depende de la cantidad de perilipina producida.

Por otro lado, La proteína de la obesidad y de masa grasa asociada (traducción del inglés de *Fat mass and obesity-associated protein*), también conocida como alfa-cetoglutarato-dependiente dioxigenasa, es un enzima en la

cual en los seres humanos es codificada por un gen localizado en el cromosoma 16 llamado *FTO*. Como un homólogo en la familia de las proteínas AlkB, es la primera demetilasa de mRNA identificada. Algunas variaciones del gen *FTO* parecen estar relacionados con la obesidad en los seres humanos (Jia et al. 2011).

Científicos británicos han mostrado que el gen *FTO* comúnmente se relaciona con la obesidad y que actúa inhibiendo la sensación de saciedad (Wardle et al. 2008). Hasta ahora se sabía que el *FTO* estaba asociado con la obesidad, un trastorno con componente genético, pero lo que no se conocía era si actuaba influyendo la cantidad de comida ingerida o el número de calorías que se quemaban. Diferentes estudios han relacionado la presencia de diferentes alelos y alteraciones genéticas en el gen *FTO* con el aumento de peso (Hinney et al. 2007; Scuteri et al. 2007; Frayling et al. 2007). No sólo alteraciones de tipo SNP sino también duplicaciones de grandes fragmentos de DNA como 680 pb en el locus del gen *FTO* en el cromosoma 16 han sido asociados con aumento de obesidad y una diferente distribución de la grasa corporal (Davies et al. 2013)

Por lo tanto, el conocimiento genético es muy importante y debe situarse dentro de esquemas o protocolos de investigación en la actuación clínica dirigida a prevenir o curar la obesidad asociado al control de los factores ambientales y sociales implicados en la misma.

1.2.8 Tratamiento

Clásicamente, el tratamiento de la obesidad consiste en el cambio del estilo de vida del paciente, que habitualmente es difícil de conseguir y más de mantener. Diferentes estudios demuestran que la reducción en la ingesta calórica de entre un 15 a un 40 % acompañada de un ejercicio aeróbico pueden reducir el BMI y la masa corporal (Damiani et al. 2002; Varady & Hellerstein 2008; Kim et al. 2009; Iacobellis et al. 2008).

Con respecto a la farmacología diferentes fármacos han sido aprobados desde 1959 hasta hoy en distintos países para combatir la obesidad. Entre ellos cabe destacar: Ionamina, Xenical, Mysimba, Belviq, Qnexa, Obezidine, didrex, Saxenda y tenuous Dospan (Onakpoya et al. 2016). Muchos de estos fármacos presentan el problema de que se desconoce totalmente su mecanismo de acción lo cual puede conllevar efectos adversos en el paciente e incluso casos de abuso. Cabe destacar que en España, actualmente hay 3 fármacos aprobados para combatir la obesidad Liraglutida, Naltrexona y Orlistat (www.aemps.gov.es). Además, en el uso de medicamentos se debe tener en cuenta la edad del paciente, al tipo de sustancia que se pretende utilizar, evaluación del potencial de dependencia. Una vez indicada, la medicación puede ser un adyuvante importante en casos en que dieta y ejercicios no estén trayendo los beneficios esperados, lo que lleva a la frustración y al abandono del tratamiento.

En casos muy extremos y cuando el paciente cumpla determinados criterios clínicos, como un IMC de más de 40 Kg/m² y presencia de comorbilidades, la cirugía bariátrica es una opción a tener en cuenta en combinación con los cambios en el estilo de vida (Fried et al. 2014). Sin embargo,

ante esta opción hay que tener en cuenta que existe un riesgo de mortalidad quirúrgica (aunque ahora mismo es mínimo), y que la cirugía acarrea riesgo de complicaciones graves (complicaciones intra-operatorias, riesgos de la anestesia y problemas pos-operatorios). Las complicaciones quirúrgicas más comunes incluyen estenosis del estómago y úlceras marginales (ocurriendo en 5% a 15% de los pacientes) que presentan náuseas y vómitos tras comer o incapacidad para avanzar a dieta con alimentos sólidos (Phillips & Shikora 2018).

Otras estrategias incluyen el uso de medicamentos a base de extractos de plantas medicinales como son *Garcinia cambogia* (GC) y *Amorphophallus konjac* de la que se prepara el Glucomannan (GNN), que han demostrado ser positivos en relación con el control y la pérdida de peso (MacLean et al. 2015; Preuss et al. 2005; Ramos et al. 1995; Toromanyan et al. 2007; Birketvedt et al. 2005; Girola et al. 1996).

La GC, es un fruto indio cuyo pericarpio presenta un gran interés en dietética por su riqueza en Ácido hidroxicitrico (AHC). El AHC, químicamente muy similar al ácido cítrico, se extrae de la piel desecada del fruto de algunos árboles del sur de Asia pertenecientes al género *Garcinia*, siendo la *Garcinia cambogia* la especie que más destaca por poseer una mayor concentración. El AHC reduce la conversión de las calorías procedentes de los carbohidratos en grasa inhibiendo el proceso de la lipogénesis. Esto se realiza gracias a su acción inhibidora de la ATP-citrato liasa, el enzima que convierte el citrato en ácidos grasos en el primer paso de la síntesis de grasa en el cuerpo. La actuación del AHC se traduce en un incremento de la producción y del almacenamiento de glucógeno (presente en el hígado, intestino delgado y músculos), a la vez que

reduce el apetito y la ganancia de peso. Además, el AHC provoca una combustión de las calorías semejante al ciclo energético de la termogénesis (Márquez et al. 2012a).

Por otro lado, *Amorphophallus konjac* es una planta con cuyas raíces se prepara el Konniaku, un alimento tradicional en Japón que tiene sus orígenes en el siglo IX. De estos tubérculos se extrae una sustancia de sorprendentes propiedades del GNN. Este es capaz de absorber más de 100 veces su volumen en agua formando un gel espeso que al llenar en cierta medida el estómago, disminuye la sensación de "estómago vacío" y, por consiguiente, la necesidad de ingerir alimento (Lyon & Reichert 2010).

1.2.9 Mortalidad. comorbilidades y coste socio-económico de la obesidad y el sobrepeso

Numerosas evidencias relacionan el aumento del sobrepeso y la obesidad con el incremento de mortalidad (Ogden et al. 2003; Flegal et al. 2005; Kelly et al. 2008; Wannamethee et al. 2001). Un reciente meta-análisis que recoge los resultados sobre obesidad y riesgo de mortalidad de 239 trabajos demuestra que el riesgo de mortalidad se incrementa con el grado de obesidad en todo el planeta. Así individuos con grado obesidad grado I es de 1,45 veces más, con grado 2 es de 1,94 y con grado 3 2,76 veces (Di Angelantonio et al. 2016)

Las complicaciones de la obesidad son de lo más diversas y de muy variada gravedad. Entre las comorbilidades más destacadas, se pueden incluir el diabetes mellitus tipo 2, la hipercolesterolemia, la hipertensión arterial, enfermedades cardiovasculares, apnea del sueño, problemas psicosociales, enfermedades ortopédicas y diversos tipos de cáncer (Price 2002; Ogden et al. 2003; Mitchell et al. 2011).

En referencia al coste socio-económico, aunque es difícil de estimar, diferentes estudios reflejan que el coste sanitario solo en EE.UU puede estar en torno 4,879 dólares por año en el caso de las mujeres y de unos 2,646 dólares en el caso de los hombres, estimándose el coste total para toda la población estadounidense de entre 147,000 a 210,000 millones de dólares americanos por año (Wang et al. 2011; Cawley & Meyerhoefer 2012). En España aunque es difícil segregar el coste de la obesidad del resto de la comorbilidades asociadas, la sociedad española para el estudio de la obesidad llego a estimar en el año 2005 que el gasto sanitario suponía el 7% del total y que rondaba los 2,500 millones de euros anuales (Consultores para Europa Bernard Krief. Gabinete de Estudios

Sociológicos 2005). Con respecto a Brasil se ha estimado que el coste sanitario asociado a la obesidad podría ser de aproximadamente 5,800 millones de dólares y que este podría doblarse en tan solo 10 años y llegando a 338,000 millones en 2050 si la incidencia de la obesidad continua la misma progresión (Rtveladze et al. 2013).

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, hipotetizamos que un tratamiento combinado con GC y GNN durante un periodo de tiempo largo de al menos 6 meses, será beneficioso para controlar el peso y mejorar el estado metabólico de individuos con obesidad y sobrepeso.

Por tanto, el objetivo principal de este trabajo es conocer los efectos de una dieta estandarizada asociada a un tratamiento farmacológico sobre la respuesta metabólica en un grupo de individuos con sobrepeso u obesidad. De manera secundaria se quiere determinar la importancia de la genética sobre la respuesta en el metabolismo y el desarrollo de la obesidad y determinar hasta donde sea posible si la presencia de determinados polimorfismos pueden predecir un grado de respuesta al tratamiento. Para ello será necesario:

- 1) Determinar el diagnóstico por técnicas de composición corporal, analítica y consumo energético en reposo.
- 2) Determinar el grado de adhesión a la dieta y al tratamiento farmacológico por seguimiento mensual.
- 3) Determinar el estudio metabólico, el estudio de composición corporal y gasto energético, al tiempo cero, a los tres meses y a los seis meses.

3. DISEÑO EXPERIMENTAL Y METODOLOGIA:

3.1 Población en estudio:

Este estudio fue diseñado como un ensayo prospectivo, no aleatorio de intervención controlada para probar las diferencias en pares apareados. Pacientes de ambos sexos y diferentes edades fueron reclutados desde febrero de 2015 hasta marzo de 2017 ($n = 214$). Todos tenían más de 18 años y tienen un $IMC > 25$. Incluimos sujetos con dislipidemias (D), hipertensión arterial (HA), Diabetes mellitus tipo II (DM) o las combinaciones dislipidemia e hipertensión arterial (DH), dislipidemia-hipertensión arterial y diabetes mellitus tipo 2 (HDD). Estos pacientes estaban bajo tratamiento para la hipertensión, DM2 o dislipidemias durante un rango de 2 meses a 4 años antes del inicio del estudio. Los criterios de exclusión incluidos fueron: embarazo o lactancia, gastroplastía o cirugía de reducción de peso gastrointestinal, dejaron de fumar durante los últimos 6 meses, enfermedad renal, antecedentes de cálculos renales recurrentes, disfunción hepática, presión arterial alta no tratada, antecedentes o síntomas de cálculos biliares, cáncer, historia de trastornos endocrinos (particularmente hipotiroidismo), antecedentes de bulimia y / o abuso de laxantes, trastornos mentales con problemas de independencia, antecedentes de abuso de alcohol u otras drogas. Las características principales del paciente se resumen en la tabla 2.

El número mínimo de individuos a incluir en el presente estudio, fue calculado aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.20 en un contraste bilateral, lo que calculó la inclusión mínima de 130 sujetos. El programa usado para este cálculo fue Gpower Version 3.1.9.2[®].

3.2 Reclutamiento de pacientes y valoración inicial

Todos los individuos fueron citados en la Clínica Estética Científica del Cuerpo, en Córdoba, Sevilla y Huelva y en el Hospital e Maternidade São Francisco de Assis, Crato, Brasil donde se les realizó en primera cita una anamnesis detallada, exploración física y estudios complementarios. Estos cuestionarios se completaron con una anamnesis alimentaria detallada por medio de un cuestionario de encuesta de alimentos y un registro cualitativo de frecuencia de consumo alimentario, para elaborar un perfil dietético. Todas ellas fueron evaluadas a los 3 y 6 meses del inicio del estudio en Clínicas de Estética Científicas del Cuerpo de Córdoba, Sevilla y Huelva (España) o del Hospital e Maternidade São Francisco de Assis, Crato, (Brasil). Todos ellos completan, previamente al inicio del estudio, un formulario para evaluar su historial médico.

Con los datos obtenidos se prescribirá, para la fase experimental, orientaciones de retorno a la consulta para la realización del protocolo de seguimiento dietético y farmacológico mensual, el estudio metabólico, el estudio de composición corporal y el gasto energético a tiempo cero, a los tres meses y a los seis meses.

3.3 Diseño Experimental:

Todos los sujetos fueron citados a la Clínica de Estética Científica de Cuerpo en Córdoba o en el Hospital y Maternidad São Francisco de Assis en Crato, Ceará, Brasil, en tres ocasiones para realización del estudio metabólico, estudio de la composición corporal y gasto energético, en la primera cita a los tres meses y a los seis meses. Cada cita se realizó a las 08:00 de la mañana tras 12 horas de ayuno previo. Las muestras para el estudio metabólico y pruebas complementarias fueron procedentes de extracción de sangre venosa, manteniendo el paciente en decúbito supino y sin compresión, las muestras se procesaron de forma convencional, centrifugándolas y transportándolas en hielo para su estudio inmediato y almacenándolas a -80°C.

El estudio metabólico y pruebas complementarias se realizaron según protocolo de análisis clínicos del Hospital Universitario Reina Sofía y Hospital e Maternidad São Francisco de Assis, realizando las siguientes pruebas: Test de tolerancia a la glucosa, test de sensibilidad periférica a la insulina, estudio de lipemia postprandial, análisis de lípidos, hematimetría, enzimas hepáticas, función renal, aislamiento de células mononucleares.

El estudio de la composición corporal y el gasto energético fueron realizados en la misma cita. Cada prueba resultó de acuerdo con las normas de aplicación y protocolo y control de calidad, respetando los tiempos de reposo del paciente entre cada prueba.

3.4 Tratamiento con GC y GNN

Se recomendó a los pacientes tener una dieta equilibrada (dieta mediterránea), comidas regulares y una ingesta abundante de agua. Se administraron extractos estandarizados de GC (52.4% HCA) y *A. konjac* (94.9%, Glucomanan) por separado en cápsulas de 500 mg cada uno de ellos. Tratamos a los pacientes con GC (500 mg), dos veces al día, media hora antes del almuerzo y la cena y GNN (500 mg), dos veces al día, media hora antes del almuerzo y la cena. Se recomendó a los pacientes practicar ejercicio físico, evitar fumar y controlar el consumo de alcohol.

3.5 Métodos y análisis de variables en estudio:

3.5.1. Composición corporal

Se midió la masa corporal en una balanza digital (HD-305 TanitaTM) con una aproximación de 0,1 kg, y la altura se midió con un Seca Bodymeter 206 con una precisión de 0,1 cm. Estos datos se usaron para calcular el índice de masa corporal (IMC kg/m²).

La impedancia bioeléctrica se realizó con un BioScan Spectrum que opera a 50 KHz, midiendo la masa grasa. Brevemente, se midieron el porcentaje de masa grasa (% de FM) y la masa libre de grasa (FFM) en sujetos en ayunas de 12 h en un programa de actividad física restringida. La FFM se evaluó utilizando la ecuación (Deurenberg et al. 1991): $FFM (kg) = 0.340 (h^2 / R) + 0.1534 (h) + 0.273 (BM) - 0.127 (edad) + 4.56 (sexo) - 12.44$ donde: h es la altura (cm), R es la resistencia (ohm).

La tasa metabólica basal (TMB) se evaluó mediante calorimetría indirecta, usando un calorímetro TEEM 100® (INBRASPORT): 12 h en ayunas, sujetos en un horario de ejercicio restringido acostado de espaldas en una habitación silenciosa a una temperatura promedio de $24 \pm 1^{\circ} \text{C}$, y VO_2 y VCO_2 se registraron durante un período de 15 minutos; los datos obtenidos durante los últimos 10 min se usaron para calcular la BMR. La estimación de BMR se basó en la ecuación de Weir (WEIR 1949): $\text{BMR (kcal / min)} = [3.9 (\text{VO}_2) + 1.1 (\text{VCO}_2)]$. El valor obtenido se multiplicó por 1440 para estimar la BMR durante 24 h (kcal / día). BMR también se calculó a partir de la relación con BM o FFM (kcal / kg / 24 h). Además, también se obtuvieron valores medios para el cociente respiratorio (RQ), VO_2 (L/min) y el equivalente metabólico (MET), tomando 1 MET para que sea igual a un gasto de 3,5 ml de O_2 /kg/min.

3.5.2. Determinaciones Bioquímicas

Estas se llevaron a cabo tras 12 horas de ayuno en muestras procedentes de extracción de sangre venosa, manteniendo el paciente en decúbito supino y sin compresión, las muestras se procesaron de forma convencional, centrifugándolas y transportándolas en hielo para su estudio inmediato y almacenándolas a -80°C . Los pacientes fueron advertidos de que se abstuvieron de realizar ejercicio físico intenso y beber alcohol 24 horas antes de la toma de la muestra. Las extracciones sanguíneas se hicieron en tubos conteniendo EDTA (7.5%, 0.072ml de EDTA, BD Vacutainer K3E, Plymouth-UK), y en tubos conteniendo Citrato (Tri-Sodium Citrate solution 0.0129M, BD Vacutainer 9NC, Plymouth-UK) manteniéndolos a 4°C . Todos los tubos se protegieron de la luz. El plasma se separó del resto de células por centrifugación a 2500 rpm durante

15 min a 4°C. Para minimizar la degradación proteolítica, el plasma procedente de los tubos con EDTA, citrato y suero se introducirá en tubos conteniendo 1 µl/ml de phenylmethylsulfonylfluoride (PMSF, Sigma) 10 mM diluido en isopropanol y 5 µl/ml de aprotinina (Trasylol, Bayer, Leverkusen, Alemania) 1.400 µg/l. Así, 3-4 ml de plasma procedente de cada tipo de tubo se almacenaron, a -80°C, en alícuotas de 300-µl para posteriormente proceder con los distintos análisis bioquímicos. El contenido en glucosa colesterol y triglicéridos de las fracciones fueron medidos usando un método de ensayo enzimático colorimétrico (CEPA® kits – MBIolog Diagnósticos Ltda.) como se ha descrito previamente (Vasques et al. 2008).

Para la extracción de ADN y genotipado de cada paciente se procedió al aislamiento de células mononucleares procedentes de sangre periférica aislándose mediante un gradiente de Ficoll. Para ello se centrifugó la sangre a 2500 rpm, 10m, 20°C; se diluyó la mitad con PBS y se añadió el doble volumen de Ficoll; Centrifugar a 2500rpm sin usar el freno de la centrifuga para respetar las fases durante 20 min, 4°C; se eliminó el sobrenadante y se recogió la capa intermedia de células que se resuspendieron en 10 ml de PBS. Se centrifugó a 1800 rpm, 8 min, 4°C eliminándose el sobrenadante y re suspendiéndose en 4 ml de PBS, repartiéndose estos en 2 ml en dos criotubos. Estos criotubos se centrifugaron a 1800 rpm, 8 min, 4°C y se eliminó el sobrenadante. Finalmente, se resuspendió el contenido de cada criotubo en 400 µl de Buffer A (10 mL HEPES;15 mM KCL;2 mM MgCL₂;1 mM EDTA). Ambos tubos se almacenaron a -80°C.

3.5.3 Análisis genético

El ADN total se aisló a partir de células mononucleares presentes en la sangre de la periferia a través de un gradiente de Ficoll. El ADN se extrajo de esta fracción usando el método cloroformo-álcohol isoamílico. El ADN se cuantificó con un espectrofotómetro que lee la absorbancia a 260 nm. Este ADN se usó para analizar si los pacientes tienen el polimorfismo diferente en estudio. La presencia de FTO rs9939609 A / T se analizó mediante polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), donde los cebadores fueron F 5'-GGT TCC TTGCGA CTG CTG TGA AAT T '3 y R 5' GCT TTT ATGCTC TCC CAC TC '3. Después de la PCR, los amplicones estaban sujetos a la acción de la enzima de restricción ApeI y los fragmentos de RFLP se analizaron en gel de agarosa como se informó anteriormente (Eynon et al. 2013). La presencia de PLIN4 11482G> A, polimorfismo se analizó mediante el ensayo de discriminación alélica con sondas Taqman en un Abi Prism 7500 © (Applied biosystems) como se ha descrito previamente (Qi et al. 2004). La presencia del polimorfismo ADBR3 trp64Arg también se analizó a través de la técnica RFLP. Primers utilizados fueron Adelante 5'-CGCCCAATACCGCCAACAC-3'y 5'-CCACCAGGAGTCCCATCACC-3'inversa y el amplicón resultante fue digerido con BstOI enzima de restricción como se ha descrito previamente (Widén et al. 1995).

3.5.4 Estadística

Los resultados se presentan como media \pm SEM. Se utilizó el programa SPSS® r22 para realizar un análisis de covarianza para determinar si hubo diferencias significativas entre las mediciones y la posible influencia de diferentes variables como sexo, polimorfismo y enfermedad. La prueba de correlación de Pearson se utilizó para descartar la posible influencia de la edad (que es una variable continua) en los resultados. Prueba a posteriori de Tukey para analizar las diferencias según se consideró apropiado. Consideramos en todo momento una $p < 0.05$ como significativo.

3.6. Aspectos éticos:

El proyecto fue elaborado respetando los principios fundamentales establecidos en la Declaración de Helsinki (1964), en el Convenio del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y la biomedicina (1997) así como cumpliendo los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética. También cuenta con aprobación del Comité de Ética e Investigación Clínica del Hospital Universitario Reina Sofía y de Hospital e Maternidad São Francisco de Assis. Todos los pacientes fueron informados acerca del proyecto y firmaron el correspondiente consentimiento informado escrito antes de entrar en el estudio.

4 RESULTADOS

4.1 Descripción de la muestra

El 58% y el 42 % de los pacientes eran mujeres y hombres respectivamente. La media de una edad media era de 37.28 ± 0.11 años, y un 66% estaban casados y con vida profesional activa. La tabla 2 resume el resto las principales características de los pacientes relacionadas con este trabajo al inicio del estudio. Con respecto a los hábitos de vida y su influencia sobre la pérdida de peso, se recogió según los cuestionarios cumplimentados por los sujetos bajo estudio que un 51,5% no hacían ningún tipo de ejercicio. Es de resaltar que obtuvimos un 95,4 % de adhesión al tratamiento farmacológico

Tabla 2. Distribución de los pacientes por sexo, edad, IMC y presencia de los diferentes polimorfismos estudiados

Característica		Nº pacientes	%
Sexo	Hombres	122	57
	Mujeres	99	43
BMI	25-30	125	58,41
	30-40	83	38,78
	>40	6	2,80
Polimorfismo	No "Normal"	138	64,48
	PLIN4 (11482G>A)	25	11,68
	FTO (rs9939609 A/T)	26	12,14
	ADRB3 (Trp64Arg)	25	11,68
Comorbilidades	DM2	16	7,47
	H	42	19,62
	D	46	21,49
	H+D	52	24,29
	DM2+H+D	58	27,10

DM2: Diabetes mellitus tipo 2, H: Hipertensión arterial, D: dislipidemias.

4.2 Efectos del tratamiento en el peso.

En primer lugar, analizamos si el tratamiento de personas con sobrepeso u obesidad con GC y GNN tenía algún efecto de peso tanto a 3 meses como a 6 meses. La media peso al inicio del estudio se encontraba en $87,25 \pm 0.84$ kg. A los tres meses de tratamiento el peso se redujo significativamente hasta alcanzar una media de $74,28 \pm 0.62$. El peso se mantuvo significativamente menor a los 6 meses de tratamiento con respecto a los valores iniciales sin ser significativamente al alcanzado a los 3 meses (Figura 3).

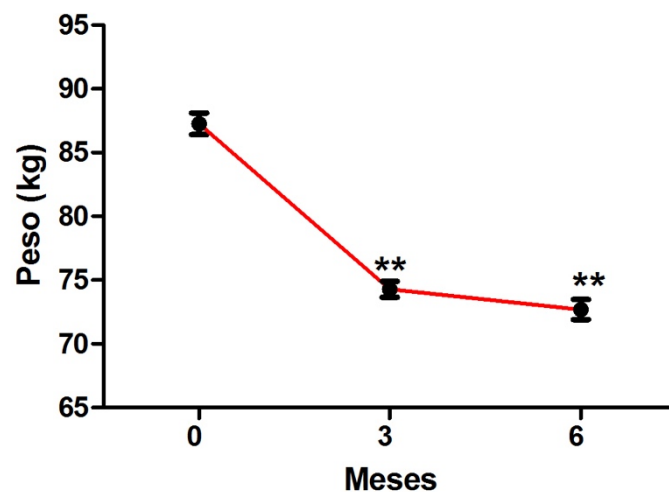


Figura 3. Efecto del tratamiento con GC y GNN en el peso de los pacientes a los 3 y a los 6 meses. Se representa la media del peso \pm el error estandar de la media. ** $p < 0.01$ vs 0 meses.

4.3 Efectos del tratamiento en el Metabolismo basal.

La tasa metabolica basal presentaba una media al inicio del tratamiento de $1641,27 \pm 23.20$ Kcal/día. El tratamiento incremento esta muy significativamente ($p < 0.01$) hasta $1673,71 \pm 23.36$ Kcal/día a los 3 meses. Este aumento se mantuvo significativamente ($p < 0.05$) elevado $1770,43 \pm 70,84$ a los 6 comparado con el inicio del estudio aunque sin mostrar diferencias con la medición a los 3 meses (Figura 4).

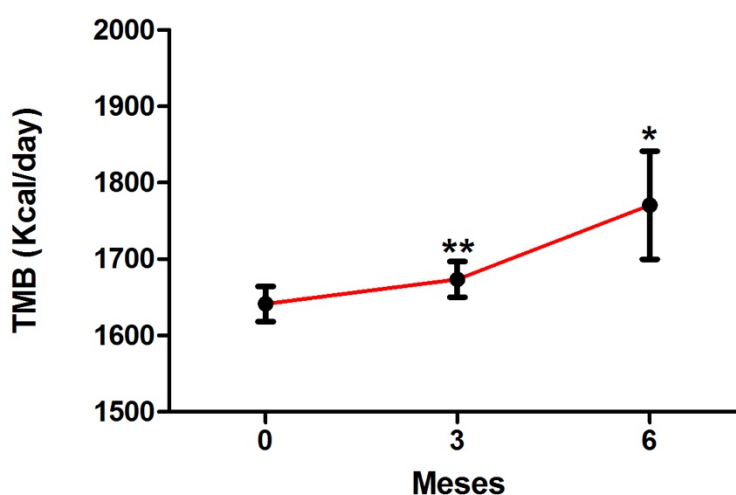


Figura 4. Efecto del tratamiento con GC y GNN en la TMB en los pacientes a los 3 y a los 6 meses. Se representa la media de TMB \pm el error estandar de la media. * $p < 0.05$ vs 0 meses; ** $p < 0.01$ vs 0 meses.

4.4 Efectos del tratamiento en la masa grasa.

La masa grasa de los pacientes al inicio del tratamiento presentaba una media $31,28 \pm 0.30$ %. Com el tratamiento esta masa grasa descendio muy significativamente ($p < 0.05$) a los 3 meses hasta alcanzar um $29,07 \pm 0,26$ %. Este descenso se mantuvo de manera muy significativa comparado com el inicio del estudio hasta disminuir al $27,36 \pm 0.28$ % a los 6 meses. No se econtraton diferencias significativas entre la masa grasa a los 3 y a los 6 meses (Figura 5)

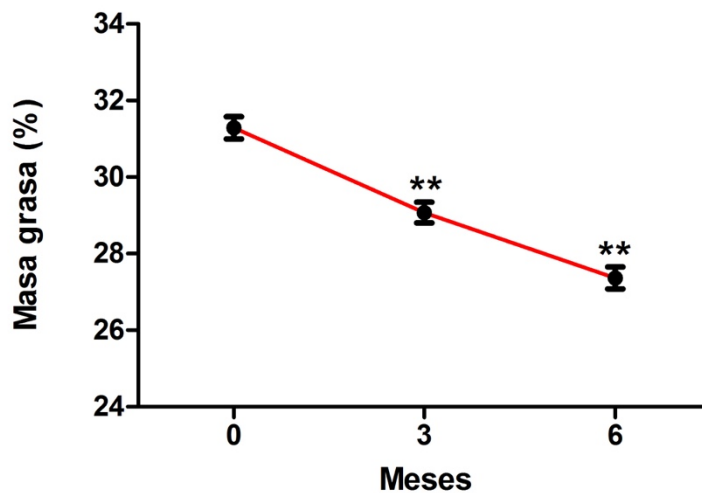


Figura 5. Efecto del tratamiento con GC y GNN en la masa grasa en los pacientes a los 3 y a los 6 meses de empezar el tratamiento. Se representa la media de masa grasa \pm el error estándar de la media (%). ** $p < 0.01$ vs 0 meses.

4.5 Efectos de los tratamientos en la grasa visceral

A continuación quisimos evaluar el efecto de ambos principios en la cantidad de grasa visceral. En el inicio del estudio, la media de la grasa visceral se hallaba en $22,16 \pm 0,20$ %. Esta cantidad se redujo muy significativamente en ambos tiempos de estudio ($p < 0.01$) reduciéndose los 3 meses de estudio hasta alcanzar un $29,07 \pm 0,26$ % y a los 6 meses un $27,36 \pm 0,28$ (%). No se hallaron diferencias significativas entre las medias a los 3 y a los 6 meses (Figura 6).

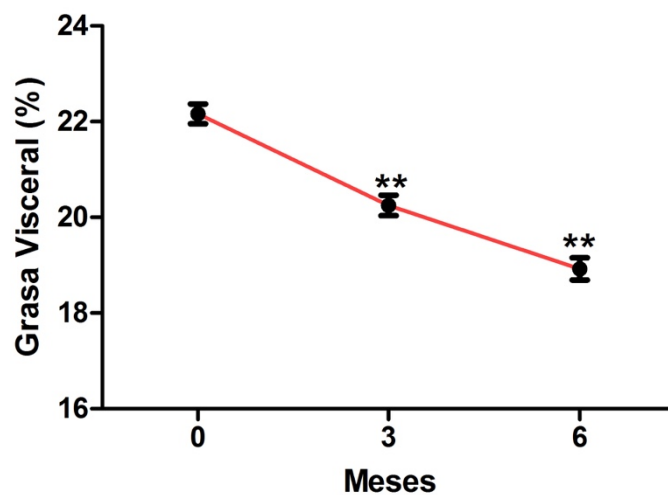


Figura 6. Efecto del tratamiento con GC y GNN en la grasa visceral en los pacientes a los 3 y a los 6 meses de empezar el tratamiento. Se representa la media de grasa visceral \pm el error estandar de la media (%). ** $p < 0.01$ vs 0 meses.

4.6 Efectos de los tratamientos sobre el nivel de glucosa.

Los niveles de glucosa fueron evaluados al inicio del tratamiento resultando una media de $99,66 \pm 1,04$ (mg/dL). Estos niveles se redujeron muy significativamente ($p < 0,01$) a los 3 y a los 6 meses del estudio alcanzando valores de $96,85 \pm 0,83$ (mg/dL) y $94,07 \pm 0,70$ (mg/dL) respectivamente. No se obtuvieron diferencias significativas entre la glucosa media a los 3 y a los 6 meses (Figura 7).

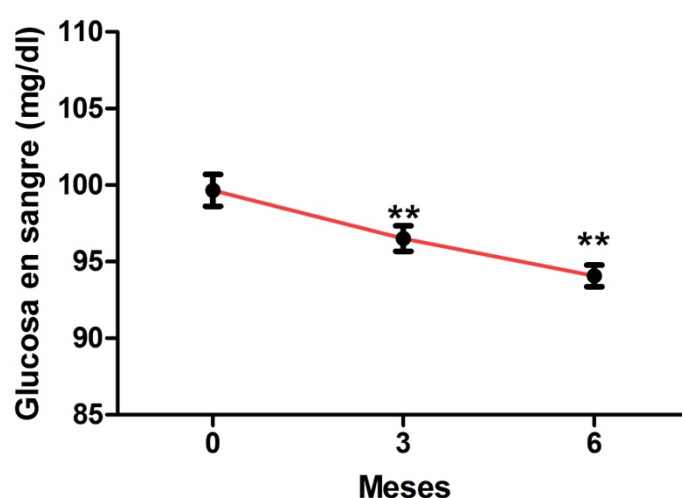


Figura 7. Efecto del tratamiento con GC y GNN en los niveles de glucosa en sangre en los pacientes a los 3 y a los 6 meses de empezar el tratamiento. Se representa la media de la glucosa en sangre \pm el error estándar de la media (mg/dL). ** $p < 0.01$ vs 0 meses.

4.7 Efectos de los tratamientos sobre el nivel de Triglicéridos.

Los niveles de triglicéridos al inicio del estudio se encontraban en un valor medio de $181,83 \pm 5,19$ (mg/dL). Estos niveles se redujeron muy significativamente ($p < 0.01$) a los 3 y 6 meses del tratamiento, presentando unos valores de $164,67 \pm 3,93$ (mg/dL) y $160,20 \pm 6,28$ (mg/dL) respectivamente. No se encontraron diferencias significativas entre los niveles de triglicéridos a los 3 y a los 6 meses (Figura 8).

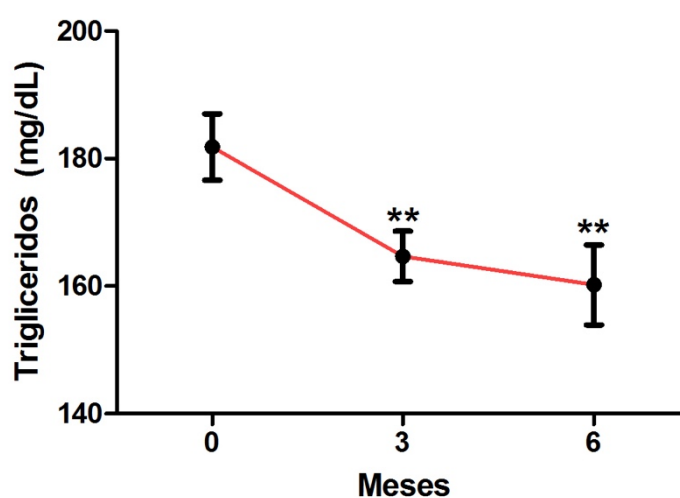


Figura 8. Efecto del tratamiento con GC y GNN en los niveles de triglicéridos en los pacientes a los 3 y a los 6 meses de empezar el tratamiento. Se representa la media de los valores de triglicéridos \pm el error estándar de la media (mg/dL). ** $p < 0.01$ vs 0 meses.

4.8 Efectos de los tratamientos sobre el nivel de colesterol.

Los niveles de colesterol de los pacientes se encontraban en una media de $239,32 \pm 3,28$ (mg/dL). Estos niveles sufrieron un descenso muy significativo ($p < 0.01$) tanto a los 3 como a los 6 meses $219,72 \pm 2,79$ (mg/dL) y $206,04 \pm 2,49$

(mg/dL) respectivamente. Entre los niveles a los 3 y a los 6 meses no se encontraron diferencias significativas (Figura 9).

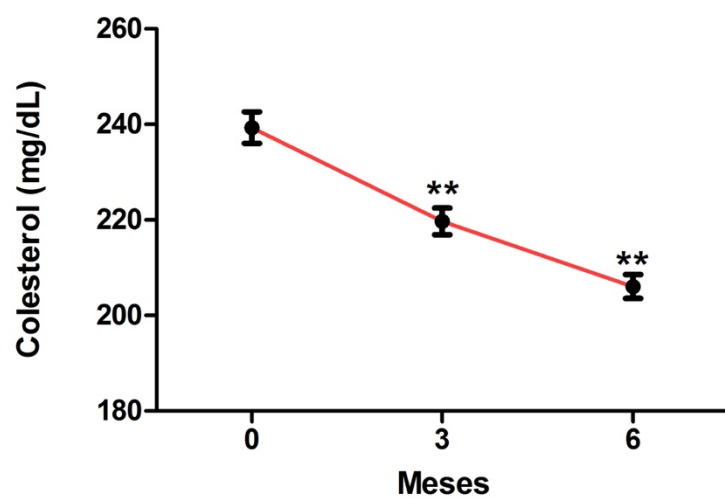


Figura 9. Efecto del tratamiento con GC y GNN en los niveles de colesterol en los pacientes a los 3 y a los 6 meses de empezar el tratamiento. Se representa la media de los valores de colesterol \pm el error estandar de la media (mg/dL). ** $p < 0.01$ vs 0 meses.

4.9 Efectos del sexo, edad y enfermedad previa de los pacientes sobre el resultado obtenido.

Al ser tanto sexo como edad variables que pueden interaccionar con el tratamiento, quisimos averiguar si influían realmente en los resultados finales. Para ello llevamos a cabo un análisis de regresión múltiple que nos indicaría si esto es así.

4.9.1 Análisis de la interacción del sexo con el tratamiento y los resultados finales.

Nuestro análisis de regresión múltiple no mostró que el sexo alterara significativamente los resultados obtenidos con respecto al peso (Figura 10A), Glucosa (Figura 10B) Colesterol (Figura 10C) y triglicéridos (Figura 10D), a los 3 y 6 meses.

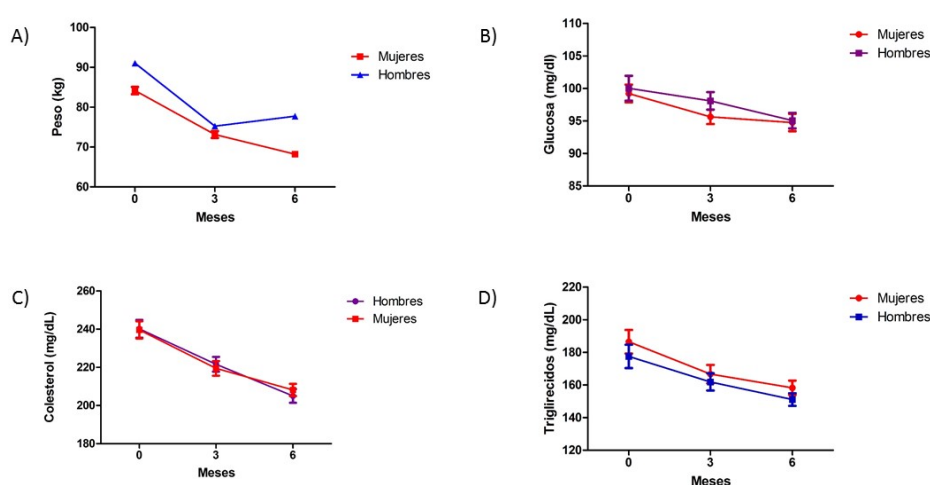


Figura 10. interacción del sexo con el tratamiento. A) Peso; B) Glucosa; C) Colesterol, D) Triglicéridos.

4.9.2 Análisis de la interacción de la edad con el tratamiento y los resultados finales.

Nuestro análisis de regresión no mostró que la edad no alterara significativamente los resultados obtenidos con respecto a la Glucosa (Figura 11 A,B) Colesterol (figura 11 C,D) y trigliceridos (figura 11D,E), a los 3 y 6 meses. En este caso y al ser la edad una variable continua el test estadístico aplicado es una regresión simple teniendo en cuenta las edades de cada individuo.

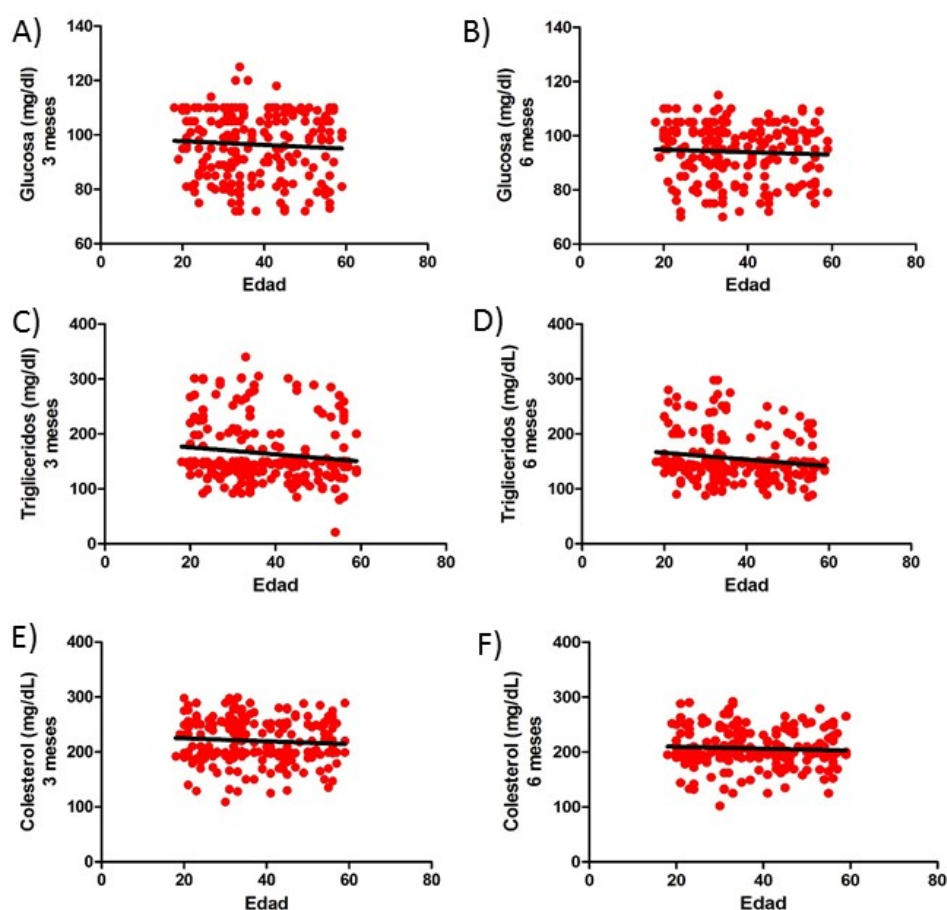


Figura 11. Interacción de la edad con el tratamiento. A,B) Glucosa; C,D) Trigliceridos; E, F) Colesterol.

4.9.3 Análisis de la interacción de la enfermedad con el tratamiento y los resultados finales

Tampoco en este caso el análisis por regresión multivariante mostró que el sufrir previamente al inicio del estudio de sufrir diabetes, hipertensión, dislipemica o hipertensión y dislipemdia o hipertension concomitante a diabetes y dislipidemía alterara significativamente los resultados obtenidos con respecto al peso (Figura 12A), Glucosa (Figura 12B) Colesterol (Figura 12C) y trigliceridos (Figura 12D) a los 3 y 6 meses.

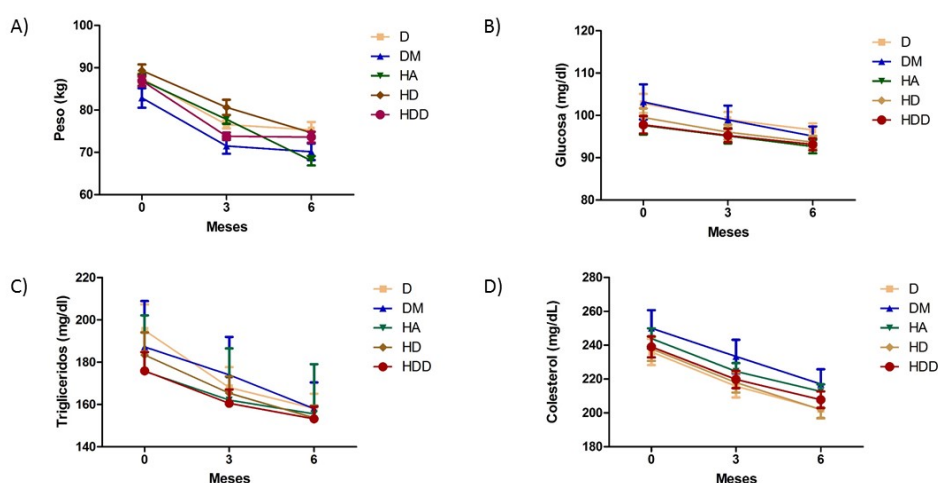


Figura 12. Interacción de la enfermedad con el tratamiento. A) peso; B) Glucosa; C) trigliceridos; D) Coelsterol. D: Dislipidemia, DM: Daibetes mellitu tipo II, HA: Hipertensión arterial, HD: Hipertensión arterial y dislipidemia, HDD: Hipertensión arterial, Diabetes Mellitus tipo II y Dislipidemia.

4.10 Efectos de la presencia de los polimorfismos PLIN4, FTO and ADBR3 (Trp64Arg) en el resultados final del tratamiento.

Como ya se ha expuesto previamente, el genotipo de cada individuo condiciona muy notablemente su predisposición a sufrir sobrepeso u obesidad. Por ello quisimos estudiar si la presencia de determinados polimorfismos asociados a estas patologías influiría sobre el resultado final del tratamiento.

4.10.1. Influencia de la presencia de polimorfismos sobre el peso en los pacientes tratados con GC y GNN.

Al analizar la influencia de los polimorfismos en el peso descubrimos que el descenso de peso fue inferior en los pacientes que presentaban cualquiera de los tres polimorfismos estudiado (Tabla 3). Así a los 3 meses frente a un peso de $72,27 \pm 0,66$ (kg) alcanzado por los pacientes si presencia de polimorfismos, los valores medios para los pacientes portadores de FTO, PLIN4 y ADBR3(Trp64Arg) fueron significativamente mayores ($p < 0.01$) alcanzado medias de $78,92 \pm 2,30$ (kg), $79,07 \pm 1,67$ (kg) y $80,93 \pm 2,26$ (kg) respectivamente. Este hecho se repitió a los 6 meses siendo el valor medio para los normales de $69,83 \pm 0,68$ (kg) y mayor de manera muy significativa ($p < 0.01$) los pesos de los pacientes con los polimorfismos FTO, PLIN4 y ADBR3(Trp64Arg) siendo estos valores $78,73 \pm 2,39$ (kg) $78,97 \pm 1,62$ (kg) y $79,50 \pm 2,31$ (kg) respectivamente. Cabe destacar que no se encontraron diferencias significativas en el peso entre los pacientes sin polimorfismos y aquellos que portaban alguno de los 3 estudiados.

Tabla 3: Diferencia de pesos (kg) entre pacientes normales y con presencia de los 3 polimorfismos estudiados a los 0, 3 y 6 meses

meses	Genotipo			
	Normal	FTO	PLIN4	ADBR3(Trp64Arg)
0	85,95±0,75	88,14±2,53	87,84±1,57	90,32±2,24
3	72,27±0,66	78,92±2,30**	79,07±1,67**	80,93±2,26**
6	69,83±0,68	78,73±2,39**	78,97±1,62**	79,50±2,31**

Peso representado por la media±SEM en kg. **p<0,01 vs Normal en cada temporalidad estudiada.

4.10.2. Influencia de la presencia de polimorfismos sobre la grasa visceral en los pacientes tratados con GC y GNN.

Al analizar la influencia de los distintos polimorfismos en la cantidad de grasa visceral ante el tratamiento aplicado, se encontró que los pacientes que portadores del polimorfismo FTO, sufrían una atenuación muy significativa de esta pérdida tanto a los 3 meses, 20,09±0,24 % en los normales frente a 21,44±0,86% en FTO. A los 6 meses del tratamiento nuestros resultados muestran que la presencia de cualquier polimorfismo atenuo muy significativa (p<0.01) la reducción de la masa visceral con valores de 18,26±0.26% en los normales frente a 21,16±0,86% en portadores de FTO, 19,66±0,60% para los portadores de PLIN4 y 19.46±0,41% para los de ADBR3(Trp64Arg) (Tabla 5).

Tabla 5. Diferencia de grasa visceral (%) entre pacientes normales y con presencia de los 3 polimorfismos estudiados a los 0, 3 y 6 meses.

meses	Genotipo			
	Normal	FTO	PLIN4	ADBR3(Trp64Arg)
0	22,13±0,23	22,28±0,69	22,36±0,51	22,53±0,85
3	20,09±0,24	21,44±0,86**	20,36±0,55	20,15±0,84
6	18,26±0,26	21,16±0,83**	19,66±0,60**	19,46±0,41**

Grasa visceral (%) representado por la media±SEM. **p<0,01 vs Normal en cada temporalidad estudiada.

4.10.3. Influencia de la presencia de polimorfismos sobre la masa grasa los pacientes tratados con GC y GNN.

Cuando analizamos la influencia de los distintos polimorfismos sobre el efecto del tratamiento en la masa grasa, encontramos que a los 6 meses se producía una atenuación muy significativa ($p<0.01$) del efecto del tratamiento al compararlo con los individuos no portadores. Estos individuos presentaron un valor de masa grasa a los 6 meses de $26,04\pm0,3\%$ frente a los valores de $29,96\pm0,80\%$, $30,08\pm0,76\%$ y $28,80\pm0,97$ que se encontraron en los pacientes portadores de FTO, Plin Y ADBR3(Trp64Arg) respectivamente (Tabla 6).

Tabla 6. Diferencia de masa grasa (%) entre pacientes normales y con presencia de los 3 polimorfismos estudiados a los 0, 3 y 6 meses.

meses	Genotipo			
	Normal	FTO	PLIN4	ADBR3(Trp64Arg)
0	31,05±0,35	32,04±0,85	31,84±0,64	32,00±0,90
3	28,52±0,33	30,04±0,82	30,16±0,89	29,50±0,79
6	26,04±0,31	29,96±0,80**	30,08±0,76**	28,80±0,97**

Masa grasa (%) representado por la media±SEM. **p<0,01 vs Normal en cada temporalidad estudiada.

4.10.4. Influencia de la presencia de polimorfismos sobre el BMR, los niveles de Glucosa, Colesterol y Trigliceridos en los pacientes tratados con GC y GNN.

En los tiempos estudiados, no se encontró ningún efecto de la presencia de los distintos polimorfismos en GEB (Tabla 7), niveles de glucosa en sangre (Tabla 8), Colesterol (tabla 9) y Triglicéridos (tabla 10).

Tabla 7. Valores registrados de BMR (kcal/día) entre pacientes normales y portadores de los diferentes polimorfismos estudiados a los 0, 3 y 6 meses.

meses	Genotipo			
	Normal	FTO	PLIN4	ADBR3(Trp64Arg)
0	1647,02±28,59	1683,60±71,98	1681,64±68,25	1532,73±62,16
3	1684,11±29,33	1713,24±71,52	1703,80±67,51	1563,57±61,63
6	1713,50±29,69	1731,44±70,46	1745,24±64,74	1593,03±62,15

Tabla 8. Valores registrados de glucosa (mg/dL) entre pacientes normales y portadores de los diferentes polimorfismos estudiados a los 0, 3 y 6 meses.

meses	Genotipo			
	Normal	FTO	PLIN4	ADBR3(Trp64Arg)
0	96,65±1,30	102,84±4,49	108,44±2,44	103,23±3,15
3	93,83±1,06	102,08±2,00	103,68±2,27	100,03±2,40
6	91,97±0,95	104,40±4,54	99,32±1,62	96,80±1,91

Tabla 9. Valores registrados de colesterol (mg/dL) entre pacientes normales y portadores de los diferentes polimorfismos estudiados a los 0, 3 y 6 meses.

meses	Genotipo			
	Normal	FTO	PLIN4	ADBR3(Trp64Arg)
0	239,32±3,28	252,60±8,51	261,28±8,49	258,88±8,25
3	219,72±2,79	232,88±8,21	242,84±8,17	238,76±7,23
6	206,04±2,49	216,72±8,52	220,56±8,022	220,42±6,22

Tabla 10. Valores registrados de triglicéridos (mg/dL) entre pacientes normales y portadores de los diferentes polimorfismos estudiados a los 0, 3 y 6 meses.

meses	Genotipo			
	Normal	FTO	PLIN4	ADBR3(Trp64Arg)
0	159,77±4,91	233,60±16,24	226,64±17,81	204,34±17,97
3	148,32±3,70	198,96±13,02	201,20±13,20	182,11±13,86
6	151,57±9,15	182,32±11,08	179,12±9,96	165,92±9,98

5. DISCUSIÓN

Con este trabajo hemos demostrado que el tratamiento combinado con GC y GNN en un plazo de 3 y 6 meses reduce el peso y mejora el estado metabólico de pacientes que sufren sobrepeso u obesidad. Con ello aportamos nuevas evidencias a estudios previos en los que el tratamiento con GC y GNN combinado demostró ser útil para combatir el sobrepeso y reducir la obesidad (Vasques et al. 2008). En este estudio previo, un estudio aleatorizado doble ciego estudio con un placebo y un grupo tratado (n = 25 pacientes en el grupo control y n = 32 en el grupo de estudio), se demostró que la administración de GC y GNN reducía los niveles de colesterol, pero sin afectar los valores antropométricos o colorimétricos. Anteriormente, se había publicado que el tratamiento combinado de GC y GNN podía reducir los niveles de colesterol, pero sin tener ningún efecto significativo que afectara el peso, la tasa basal metabólica, los triglicéridos y la glucosa. Este estudio, se realizó durante 12 semanas siendo la dosis de GC de 2.5 g/día y GNN 1.5 g/día. En nuestro trabajo, hemos aumentado el número de pacientes hasta 136 (sin presencia de polimorfismos) y el seguimiento hasta 6 meses reduciendo las dosis de cada extracto de planta a 1 g/día con los resultados ya mencionados. Además, hemos demostramos que la administración de una terapia combinada de GC y GNN a 214 personas con sobrepeso u obesidad y algunas comorbilidades asociadas tales como dislipidemias, hipertensión y DM2, reducen a los 3 y 6 meses el peso (14% y 16%), la masa grasa (7% y 12%), visceral grasa (9% y 15%), glucosa (3% y 6%), colesterol (8% y 13%), triglicéridos (10% y 15.3%) e incrementa la TMB medida mediante calorimetría indirecta (2% y 4%).

En la literatura especializada está ampliamente reconocido el hecho de que la administración de GC y GNN tiene un efecto positivo en el control de peso y lípidos (Semwal et al. 2015; Ríos-Hoyo & Gutiérrez-Salmeán 2016; Shima et al. 1983; Sood et al. 2008a; Vasques et al. 2008; Vido et al. 1993; Vuksan et al. 2000; Walsh et al. 1984; Preuss et al. 2004; Preuss et al. 2005; Ohia et al. 2002; Mattes & Bormann 2000; Keithley & Swanson n.d.; Kaats et al. 2015; Chuah et al. 2013; Biancardi et al. 1989a). Sin embargo, algunos de estos trabajos presenta un número reducido de pacientes o un seguimiento muy corto (Márquez et al. 2012b) que hacen dudar sobre los efectos a largo plazo de estos tratamientos. A este respecto, merece la pena recordar que Ramos y colaboradores demostraron que el tratamiento con 1,5 g de un diario de GC durante 8 semanas junto con restricción calórica reducen significativamente el peso en pacientes obesos (Ramos et al., 1995). De la misma manera, Mates y Bormann en un estudio con pacientes con sobrepeso (n=256) bajo restricción calórica y tratados con 2,4 g de GC por día durante 12 semanas también encontraron una reducción en el peso (Mattes & Bormann 2000). Otros estudios que trataron a pacientes obesos o con sobrepeso con GC en combinación con otros extractos de plantas Chitosan, *Phaseolus vulgaris*, *Gymnema silvestra*, *Matricaria chamomilla*, *Rosa damasquinada*, *Lavandula officinalis* y *Cananga odorata* encontraron resultados similares siempre en estudios de no más de 12 semanas y con dosis que varían de 0,055 g a 2,8 g por día (Girola et al. 1996). Por otro lado, la acción beneficiosa del tratamiento con GNN en el control del peso ha sido ampliamente demostrada. El tratamiento con GNN con dosis de (1,24 a 3 g por día) solas o con restricción calórica fue capaz de reducir el peso en pacientes obesos adultos y niños (Biancardi et al. 1989b; Birketvedt et al.

2005; Cairella & Marchini 1995; Sood et al. 2008b; Vido et al. 1993; Walsh et al. 1984)

Por otro lado, también se ha demostrado que el tratamiento combinado con GC y GNN cambia el perfil de lípidos en los pacientes con sobrepeso/obesos. Así, el tratamiento con GC y GNN solos o en combinación con otros extractos de plantas o con restricción calórica reducen los niveles de colesterol, triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad (Girola et al. 1996; Ramos et al. 1995; Sood et al. 2008b; Vuksan et al. 2000; Yoshida et al. 2006)

Diferentes autores han publicado estudios en los que la administración de GC reduce el peso (Semwal et al. 2015; Sun et al. 2016), aunque otros no han encontrado suficiente evidencia (Heymsfield et al. 1998) o presentan dudas sobre sus efectos a largo plazo porque no se informaron en más de 12 meses de administración (Márquez et al. 2012b). Estas diferencias podrían estar relacionado con las diferentes composiciones de los extractos de GC disponibles y las dosis administradas (Chuah et al. 2013).

Por otro lado, GNN también ha demostrado reducir el peso (Sood et al. 2008a) aunque otros estudios no encontraron tal asociación (Onakpoya et al. 2014). Estas diferencias pueden estar relacionadas con la variabilidad de los criterios inclusión de los pacientes en cada estudio, y como en el caso de GC a la diferente composición de extractos usados de GNN. Es importante destacar que, en nuestro estudio, el tratamiento combinado, es capaz de reducir el peso, la masa grasa y la grasa visceral independientemente del sexo, la edad y las enfermedades previas sin tener efectos adversos en los pacientes, lo que hace

que este tratamiento pueda ser adecuado para un amplio segmento de población.

Es ampliamente conocido que el éxito de las terapias de obesidad se ve influenciado por la variabilidad individual basada principalmente en las diferencias en el estilo de vida y la genética de cada individuo (MacLean et al. 2015; Maclean et al. 2011; Bray & Wadden 2015). Por esta razón, también buscamos estudiar la influencia de diferentes polimorfismos asociados al riesgo de padecer obesidad con un tratamiento con el tratamiento combinado de GC y GNN para reducir el peso. Por lo tanto, otro objetivo importante en nuestro trabajo fue determinar si la presencia de diferentes el polimorfismo puede afectar el resultado del tratamiento combinado GC y GNN. Cuando analizamos los resultados por efecto polimorfismo, encontramos que hubo una reducción de peso atenuada, grasa visceral y masa grasa en portadores de los polimorfismos FTO (rs9939609 A/T), PLIN4 (11482G> A) y ADRB3 (Trp64Arg) en las dos temporalidades estudiadas. Se ha descrito que los polimorfismos en PLIN y ADRB3 (Trp64Arg) están asociados a alteraciones en el mecanismo de lipólisis disminuyéndola (Corella et al. 2005b). Sin embargo, uno de los mecanismos que el tratamiento con GC y GNN puede utilizar para producir la pérdida de peso es el aumento de la lipólisis (Sethi 2011). Por lo tanto, sería razonable pensar que una reducción en la tasa de lipólisis en pacientes con estos polimorfismos podría haber obstaculizado el efecto de la lipólisis desencadenado por el tratamiento con GC y GNN y por ello influir en el resultado final del tratamiento.

Por otro lado, el gen *PLIN* que codifica la proteína de perilipina 1 que a su vez es fosforilada por la proteína kinasa A. La fosforilación de Perilipin 1 facilita

la acción de la lipasa sensible a hormonas, una enzima que juega un papel clave en la lipólisis. Varios polimorfismos en este gen se han asociado a la obesidad (Smith & Ordovás 2012; Luglio et al. 2015). Por lo tanto, pacientes portadores del polimorfismo PLIN1 (6209T> C; rs2289487) y PLIN6 (14995A> T; rs1052700) han mostrado una mejor respuesta a tratamiento antiobesidad (Qi et al. 2004). Por el contrario, y de acuerdo con nuestros resultados, aquellos pacientes portadores de PLIN4 (11482G> A) presentan una peor respuesta a los tratamientos de pérdida de peso como se ha demostrado anteriormente (Corella et al. 2005a).

Con respecto a ADRB3, este receptor juega un papel importante en la lipólisis activada por la señalización de catecolaminas. El cambio producido por la presencia del polimorfismo Trp64Arg produce que ADRB3 no alcance el máximo generación de cAMP tras la activación y, por lo tanto, reduce la lipólisis (Candelore et al. 1996). Por consiguiente, y en la línea de los resultados de nuestro estudio, los portadores de este polimorfismo no redujeron el peso, grasa y grasa visceral al mismo nivel que en los sujetos no portadores. Sin embargo, aunque los niveles de triglicéridos y colesterol puede parecer que aumentaron en comparación con pacientes no portadores de este polimorfismo, estos niveles no alcanzaron significación estadística.

Por otro lado, el polimorfismo de FTO rs9939609 está asociado a un sentimiento de baja saciedad después de las comidas más que a un efecto sobre la una regulación de la TMB (Speakman 2015). En nuestro estudio, encontramos que los pacientes con este polimorfismo no se reduce el peso, la grasa visceral y la masa grasa como pacientes normales. Estos resultados pueden explicarse

porque estos pacientes tienen una tendencia a aumentar la ingesta calórica, y por tanto atenuarían los efectos de los tratamientos.

Teniendo en cuenta la presencia de los diferentes polimorfismos estudiados en este trabajo y cómo influyen en el grado de pérdida de peso, masa grasa y masa visceral, sería importante analizar su presencia previamente a la implantación de la terapia para así ajustar el tratamiento (quizás aumentando la dosis de GC o GNN) y por tanto así obtener un mejor resultado.

La seguridad del tratamiento con GNN y GC ha sido evaluada en diversos estudios y no hay evidencias de que su uso se asocie un aumento de la toxicidad, efectos secundarios o aumento de la mortalidad (Keithley et al. 2013; Ohia et al. 2002). Si hay que reconocer que ciertas preocupaciones han sido publicadas con respecto a la toxicidad de GC en determinadas situaciones (Lopez et al. 2014; Lunsford et al. 2016). Somos conscientes de que para extender el uso de este tipo de terapia para tratar la obesidad es necesario diseñar más ensayos aleatorios de doble ciego, a la vez que hay que mejorar la caracterización de los diferentes extractos y usar dosis homogéneas para tratar a los pacientes con el fin de poder comparar mejor los resultados. Sin embargo, también es obligatorio ampliar nuestro conocimiento sobre los posibles efectos a largo plazo de la administración de suplementos en pacientes obesos. En este sentido, en nuestro estudio, ninguno de los pacientes informó ningún efecto secundario o adverso en la duración del tratamiento que respalda la seguridad de esta terapia.

6. CONCLUSIONES.

Tomados en conjunto estos los resultados obtenidos y su análisis nos permite concluir lo siguiente:

- 1) El tratamiento con GC y GNN de personas con sobrepeso u obesidad con diferente sexo, edad y afectados por enfermedades metabólicas diferentes disminuyen el peso, la masa grasa, la grasa visceral, la glucosa, los triglicéridos y los niveles de colesterol junto con una tasa metabólica basal creciente sin tener ningún efecto adverso.
- 2) Estos resultados son independientes del sexo, edad o que el paciente sufra de hipertensión, dislipidemias, diabetes mellitus o la combinación de diabetes e hipertensión, diabetes y dislipidemias o diabetes más hipertensión más dislipidemias.
- 3) La presencia de polimorfismos como PLIN4 (11482G> A), FTO (rs9939609 A / T) y ADRB3 Trp64Arg podría atenuar el efecto beneficioso del tratamiento combinado de GC con GNN
- 4) Por lo tanto, un estudio genético del paciente previo al tratamiento, para averiguar de la presencia de estos los polimorfismos, es aconsejable para establecer un ajuste en el tratamiento y así obtener una mejor respuesta.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Allison, D.B. et al., 1996. The heritability of body mass index among an international sample of monozygotic twins reared apart. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*, 20(6), pp.501–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8782724> [Accessed May 1, 2017].
- Di Angelantonio, E. et al., 2016. Body-mass index and all-cause mortality: individual-participant-data meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. *The Lancet*, 388(10046), pp.776–786. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27423262> [Accessed February 18, 2018].
- Arbex, A.K. et al., 2014. Obesity epidemic in Brazil and Argentina: a public health concern. *Journal of health, population, and nutrition*, 32(2), pp.327–34. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25076669> [Accessed February 11, 2018].
- Arner, P., 2000. Obesity--a genetic disease of adipose tissue? *The British journal of nutrition*, 83 Suppl 1, pp.S9-16. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10889786> [Accessed May 1, 2017].
- Barsh, G.S., Farooqi, I.S. & O'Rahilly, S., 2000. Genetics of body-weight regulation. *Nature*, 404(6778), pp.644–51. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10766251> [Accessed May 8, 2017].
- Biancardi, G., Palmiero, L. & Ghirardi, P., 1989a. Glucomannan in the treatment of overweight patients with osteoarthritis. *Curr Ther Res*, 46(908–912).
- Biancardi, G., Palmiero, L. & Ghirardi, P., 1989b. Glucomannan in the treatment of overweight patients with osteoarthritis. *Curr Ther Res*, 46, pp.908–912.
- Birketvedt, G.S. et al., 2005. Experiences with three different fiber supplements in weight reduction. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 11(1), p.PI5-8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15614200> [Accessed August 25, 2017].
- Bray, G.A. & Wadden, T.A., 2015. Improving long-term weight loss maintenance: can we do it? *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 23(1), pp.2–3. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/oby.20964> [Accessed May 17, 2017].

- 2017].
- Byrd-Bredbenner, C. et al., 2010. *Perspectivas en nutrición* 8th ed., McGrawHill.
- Cairella, M. & Marchini, G., 1995. [Evaluation of the action of glucomannan on metabolic parameters and on the sensation of satiation in overweight and obese patients]. *La Clinica terapeutica*, 146(4), pp.269–74. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7796558> [Accessed August 24, 2017].
- Candelore, M.R. et al., 1996. Pharmacological characterization of a recently described human beta 3-adrenergic receptor mutant. *Endocrinology*, 137(6), pp.2638–41. Available at: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/endo.137.6.8641219> [Accessed June 14, 2017].
- Cawley, J. & Meyerhoefer, C., 2012. The Medical Care Costs of Obesity: An Instrumental Variables Approach. *Journal of Health Economics*, 31(1), pp.219–230.
- Chuah, L.O. et al., 2013. Updates on Antiobesity Effect of Garcinia Origin (-)-HCA. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2013, p.751658. Available at: <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2013/751658/> [Accessed June 7, 2017].
- Clément, K. et al., 1995. Genetic variation in the beta 3-adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *The New England journal of medicine*, 333(6), pp.352–4. Available at: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199508103330605> [Accessed June 5, 2017].
- Clément, K. & Ferré, P., 2003. Genetics and the pathophysiology of obesity. *Pediatric research*, 53(5), pp.721–5. Available at: <http://www.nature.com/doi/abs/10.1203/01.PDR.0000059753.61905.58> [Accessed May 1, 2017].
- Consultores para Europa Bernard Krief. Gabinete de Estudios Sociológicos, 2005. *Costes sociales y económicos de la obesidad y sus patologías asociadas: (hipertensión, hiperlipidemias y diabetes) : los tratamientos de futuro y el coste-beneficio generado por su aplicación en el horizonte del año 2005 en España : estudio prospectivo* De B. Krief, ed.,
- Coppini, L. & Waitzberg, D., 2000. Impedância bioelétrica. In *Nutrição oral*,

enteral e parenteral na prática clínica Title. São Paulo: Atheneu, pp. 295–304.

- Corella, D. et al., 2005a. Obese subjects carrying the 11482G>A polymorphism at the perilipin locus are resistant to weight loss after dietary energy restriction. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 90(9), pp.5121–6. Available at: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2005-0576> [Accessed August 24, 2017].
- Corella, D. et al., 2005b. Obese subjects carrying the 11482G>A polymorphism at the perilipin locus are resistant to weight loss after dietary energy restriction. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 90(9), pp.5121–6. Available at: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2005-0576> [Accessed June 14, 2017].
- Damiani, D., Damiani, D. & Oliveira, R.G. de, 2002. Obesidade– fatores genéticos ou ambientais? *Pediatria Moderna*, 38(3), pp.57–80.
- Davies, R.W. et al., 2013. A 680 kb duplication at the FTO locus in a kindred with obesity and a distinct body fat distribution. *European journal of human genetics : EJHG*, 21(12), pp.1417–22. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23591406> [Accessed February 18, 2018].
- Delrue, M.-A. & Michaud, J., 2004. Fat chance: genetic syndromes with obesity. *Clinical Genetics*, 66(2), pp.83–93. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15253756> [Accessed October 20, 2017].
- Deurenberg, P. et al., 1991. Sex and age specific prediction formulas for estimating body composition from bioelectrical impedance: a cross-validation study. *International journal of obesity*, 15(1), pp.17–25. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2010255> [Accessed August 26, 2017].
- Eynon, N. et al., 2013. The FTO A/T polymorphism and elite athletic performance: a study involving three groups of European athletes. *PloS one*, 8(4), p.e60570. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23573268> [Accessed June 6, 2017].
- Farooqi, I.S. & O’Rahilly, S., 2004. Monogenic human obesity syndromes.

- Recent progress in hormone research*, 59, pp.409–24. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14749512> [Accessed May 1, 2017].
- Fernandes, A.E., Fujiwara, C. & de Melo, M.E., 2011. Genética: Causa Comum de Obesidade. *ABESO*, 54, pp.11–14.
- Ferrannini, E., 1988. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism: clinical and experimental*, 37(3), pp.287–301. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3278194> [Accessed February 11, 2018].
- Fett, C.A., Fett, W.C.R. & Marchini, J.S., 2006. Comparação entre bioimpedância e antropometria e a relação de índices corporais ao gasto energético de repouso e marcadores bioquímicos sanguíneos em mulheres da normalidade à obesidade. *Rev. Bras. Cineantropom. Desempenho Hum*, 8(1), p.36.
- Flegal, K.M. et al., 2005. Excess Deaths Associated With Underweight, Overweight, and Obesity. *JAMA*, 293(15), p.1861. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15840860> [Accessed May 17, 2017].
- Frayling, T.M. et al., 2007. A Common Variant in the FTO Gene Is Associated with Body Mass Index and Predisposes to Childhood and Adult Obesity. *Science*, 316(5826), pp.889–894. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17434869> [Accessed February 18, 2018].
- Fried, M. et al., 2014. Interdisciplinary European Guidelines on Metabolic and Bariatric Surgery. *Obesity Surgery*, 24(1), pp.42–55. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24081459> [Accessed February 2, 2018].
- Galic, S., Oakhill, J.S. & Steinberg, G.R., 2010. Adipose tissue as an endocrine organ. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 316(2), pp.129–139. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19723556> [Accessed February 11, 2018].
- Garrow, J.S. & Webster, J., 1985. Quetelet's index (W/H²) as a measure of fatness. *International journal of obesity*, 9(2), pp.147–53. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4030199> [Accessed January 15, 2018].

- Girola, M., De Bernardi, M. & Contos, S., 1996. Dose effect in lipid lowering activity of a new dietary integrator (Chitosan, Garcinia cambogia extract, and Chrome). *Acta Toxicol. Ther*, 17(25–40).
- Greenberg, A.S. et al., 1991. Perilipin, a major hormonally regulated adipocyte-specific phosphoprotein associated with the periphery of lipid storage droplets. *The Journal of biological chemistry*, 266(17), pp.11341–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2040638> [Accessed February 1, 2018].
- Harrington, T.A.M. et al., 2004. Distribution of Adipose Tissue in the Newborn. *Pediatric Research*, 55(3), pp.437–441. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14681496> [Accessed January 15, 2018].
- Harris, J.A. & Benedict, F.G., 1918. A Biometric Study of Human Basal Metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 4(12), pp.370–3. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16576330> [Accessed January 30, 2018].
- Heymsfield, S.B. et al., 1998. Garcinia cambogia (hydroxycitric acid) as a potential antiobesity agent: a randomized controlled trial. *JAMA*, 280(18), pp.1596–600. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9820262> [Accessed June 7, 2017].
- Hill, J.O. et al., 2003. Obesity and the environment: where do we go from here? *Science (New York, N.Y.)*, 299(5608), pp.853–5. Available at: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1079857> [Accessed May 1, 2017].
- Hindorff, L.A. et al., 2009. Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(23), pp.9362–9367. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19474294> [Accessed May 1, 2017].
- Hinney, A. et al., 2007. Genome Wide Association (GWA) Study for Early Onset Extreme Obesity Supports the Role of Fat Mass and Obesity Associated Gene (FTO) Variants F. Kronenberg, ed. *PLoS ONE*, 2(12), p.e1361. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18159244> [Accessed

- February 18, 2018].
- Iacobellis, G. et al., 2008. Substantial changes in epicardial fat thickness after weight loss in severely obese subjects. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 16(7), pp.1693–7. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1038/oby.2008.251> [Accessed February 2, 2018].
- Iida, I., 2005. *Ergonomia – Projeto e Produção*. 2nd ed. E. Blücher, ed., Sao Paulo.
- Isosaki, M. & Cardoso, E., 2009. *Manual de Dietoterapia e Avaliação Nutricional* 2 ed., Sao Paulo: Atheneu.
- Jensen, M.D. et al., 2014. 2013 AHA/ACC/TOS Guideline for the Management of Overweight and Obesity in Adults. *Circulation*, 129(25 suppl 2), pp.S102–S138. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24222017> [Accessed January 15, 2018].
- Jia, G. et al., 2011. N6-Methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO. *Nature Chemical Biology*, 7(12), pp.885–887. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22002720> [Accessed May 18, 2017].
- Kaats, G.R., Bagchi, D. & Preuss, H.G., 2015. Konjac Glucomannan Dietary Supplementation Causes Significant Fat Loss in Compliant Overweight Adults. *Journal of the American College of Nutrition*, pp.1–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26492494> [Accessed June 7, 2017].
- Keithley, J. & Swanson, B., Glucomannan and obesity: a critical review. *Alternative therapies in health and medicine*, 11(6), pp.30–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16320857> [Accessed May 18, 2017].
- Keithley, J.K. et al., 2013. Safety and Efficacy of Glucomannan for Weight Loss in Overweight and Moderately Obese Adults. *Journal of Obesity*, 2013, pp.1–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24490058> [Accessed June 7, 2017].
- Kelly, T. et al., 2008. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International journal of obesity (2005)*, 32(9), pp.1431–7. Available at: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ijo.2008.102> [Accessed May 1, 2017].

- Kim, M.-K. et al., 2009. Aerobic exercise training reduces epicardial fat in obese men. *Journal of Applied Physiology*, 106(1), pp.5–11. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18927266> [Accessed February 2, 2018].
- Klempel, M.C. & Varady, K.A., 2011. Reliability of leptin, but not adiponectin, as a biomarker for diet-induced weight loss in humans. *Nutrition Reviews*, 69(3), pp.145–154. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21348878> [Accessed February 11, 2018].
- Lam, Y.Y. & Ravussin, E., 2017. Indirect calorimetry: an indispensable tool to understand and predict obesity. *European Journal of Clinical Nutrition*, 71(3), pp.318–322. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27848941> [Accessed February 11, 2018].
- Lopez, A.M., Kornegay, J. & Hendrickson, R.G., 2014. Serotonin toxicity associated with Garcinia cambogia over-the-counter supplement. *Journal of medical toxicology : official journal of the American College of Medical Toxicology*, 10(4), pp.399–401. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24699886> [Accessed February 8, 2018].
- Luglio, H.F., Sulistyoningrum, D.C. & Susilowati, R., 2015. The role of genes involved in lipolysis on weight loss program in overweight and obese individuals. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 57(2), pp.91–97. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26388665> [Accessed June 5, 2017].
- Lukaski, H.C., 1987. Methods for the assessment of human body composition: traditional and new. *The American journal of clinical nutrition*, 46(4), pp.537–56. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3310598> [Accessed January 26, 2018].
- Luke, A. et al., 1997. Relation between body mass index and body fat in black population samples from Nigeria, Jamaica, and the United States. *American journal of epidemiology*, 145(7), pp.620–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9098179> [Accessed February 11,

- 2018].
- Lunsford, K.E. et al., 2016. Dangerous dietary supplements: Garcinia cambogia-associated hepatic failure requiring transplantation. *World journal of gastroenterology*, 22(45), pp.10071–10076. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28018115> [Accessed October 16, 2017].
- Lyon, M.R. & Reichert, R.G., 2010. The effect of a novel viscous polysaccharide along with lifestyle changes on short-term weight loss and associated risk factors in overweight and obese adults: an observational retrospective clinical program analysis. *Alternative medicine review : a journal of clinical therapeutic*, 15(1), pp.68–75. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20359270> [Accessed May 18, 2017].
- Maclean, P.S. et al., 2011. Biology's response to dieting: the impetus for weight regain. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 301(3), pp.R581-600. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21677272> [Accessed August 24, 2017].
- MacLean, P.S. et al., 2015. NIH working group report: Innovative research to improve maintenance of weight loss. *Obesity*, 23(1), pp.7–15. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25469998> [Accessed May 17, 2017].
- Madden, A.M. & Smith, S., 2016. Body composition and morphological assessment of nutritional status in adults: a review of anthropometric variables. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 29(1), pp.7–25. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25420774> [Accessed February 11, 2018].
- Mahan, L.K. & Escott-Stump, S., 1996. Nutrición y Dietoterapia de Krause, Energías. In *Nutrición y Dietoterapia de Krause Energías*. pp. 17–29.
- Marques-Lopes, I. et al., 2004. Aspectos genéticos da obesidade. *The Revista de Nutrição*, 17, pp.327–338.
- Márquez, F. et al., 2012a. Evaluation of the safety and efficacy of hydroxycitric acid or Garcinia cambogia extracts in humans. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(7), pp.585–94. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2010.500551>

- [Accessed May 18, 2017].
- Márquez, F. et al., 2012b. Evaluation of the safety and efficacy of hydroxycitric acid or Garcinia cambogia extracts in humans. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(7), pp.585–94. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2010.500551> [Accessed August 24, 2017].
- Martin-Moreno, J.M. et al., 1993. Development and validation of a food frequency questionnaire in Spain. *International journal of epidemiology*, 22(3), pp.512–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8359969> [Accessed February 18, 2018].
- Martinez, J.A., 2000. Body-weight regulation: causes of obesity. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 59(3), pp.337–45. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10997649> [Accessed May 1, 2017].
- Mattes, R.D. & Bormann, L., 2000. Effects of (-)-hydroxycitric acid on appetitive variables. *Physiology & behavior*, 71(1–2), pp.87–94. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11134690> [Accessed June 9, 2017].
- Mitanchez, D. & chavatte-Palmer, P., 2018. Review shows that maternal obesity induces serious adverse neonatal effects and is associated with childhood obesity in their offspring. *Acta Paediatrica*. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29421859> [Accessed February 11, 2018].
- Mitchell, N.S. et al., 2011. Obesity: overview of an epidemic. *The Psychiatric clinics of North America*, 34(4), pp.717–32. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22098799> [Accessed February 18, 2018].
- Nyober, J., 1959. *No Titlelectrical Impedance Plethysmography*.e Charles C Thomas., ed., Springfield, Ill.
- O’Rahilly, S. et al., 2003. Minireview: human obesity-lessons from monogenic disorders. *Endocrinology*, 144(9), pp.3757–64. Available at: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/en.2003-0373> [Accessed May 8, 2017].
- Ochoa, M. del C., Martí, A. & Martínez, J.A., 2004. [Obesity studies in candidate

- genes]. *Medicina clinica*, 122(14), pp.542–51. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15117649> [Accessed May 1, 2017].
- Ogden, C.L., Carroll, M.D. & Flegal, K.M., 2003. Epidemiologic trends in overweight and obesity. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 32(4), p.741–60, vii. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14711060> [Accessed February 1, 2018].
- Ohia, S.E. et al., 2002. Safety and mechanism of appetite suppression by a novel hydroxycitric acid extract (HCA-SX). *Molecular and cellular biochemistry*, 238(1–2), pp.89–103. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12349913> [Accessed August 24, 2017].
- OMS, 2012a. No Title. Available at:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>.
- OMS, 2012b. *Obesity and Overweight*,
- Onakpoya, I., Posadzki, P. & Ernst, E., 2014. The efficacy of glucomannan supplementation in overweight and obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of the American College of Nutrition*, 33(1), pp.70–8. Available at:
<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07315724.2014.870013>
 [Accessed May 18, 2017].
- Onakpoya, I.J., Heneghan, C.J. & Aronson, J.K., 2016. Post-marketing withdrawal of anti-obesity medicinal products because of adverse drug reactions: a systematic review. *BMC medicine*, 14(1), p.191. Available at:
<http://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12916-016-0735-y>
 [Accessed February 2, 2018].
- Paiva, C.R.E. et al., 2002. Avaliação da composição corporal em meninos brasileiros: o método de impedância bioelétrica. *Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano*, 4(1), p.45.
- Pereira, L.O., de Francischi, R.P. & Lancha Jr, A.H., 2003. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 47(2), pp.111–127.
- Phillips, B.T. & Shikora, S.A., 2018. The history of metabolic and bariatric

- surgery: Development of standards for patient safety and efficacy. *Metabolism*. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29307519> [Accessed February 2, 2018].
- Prentice, A.M. & Jebb, S.A., 1995. Obesity in Britain: gluttony or sloth? *BMJ (Clinical research ed.)*, 311(7002), pp.437–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7640595> [Accessed May 1, 2017].
- Preuss, H.G. et al., 2004. Effects of a natural extract of (-)-hydroxycitric acid (HCA-SX) and a combination of HCA-SX plus niacin-bound chromium and *Gymnema sylvestre* extract on weight loss. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 6(3), pp.171–180. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15056124> [Accessed June 9, 2017].
- Preuss, H.G. et al., 2005. Efficacy of a novel calcium/potassium salt of (-)-hydroxycitric acid in weight control. *International journal of clinical pharmacology research*, 25(3), pp.133–44. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16366421> [Accessed August 25, 2017].
- Price, R.A., 2002. Genetics and common obesities: Background, current status, strategies and future prospects. In T. Wadden & A. Stunkard, eds. *Handbook of obesity treatment*. New York: : Guilford Press., pp. 73–94.
- Qi, L. et al., 2004. Genetic variation at the perilipin (PLIN) locus is associated with obesity-related phenotypes in White women. *Clinical genetics*, 66(4), pp.299–310. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-0004.2004.00309.x> [Accessed May 17, 2017].
- Ramos, R., Sanz, S. & Aguilar, S., 1995. Extract of *Garcinia cambogia* in the control of obesity. *Invest Med Int.*, 22, pp.97–100.
- Rankinen, T. et al., 2006. The Human Obesity Gene Map: The 2005 Update. *Obesity*, 14(4), pp.529–644. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16741264> [Accessed May 1, 2017].
- Rao, K.R., Lal, N. & Giridharan, N. V., 2014. Genetic & epigenetic approach to human obesity. *The Indian journal of medical research*, 140(5), pp.589–603. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25579139> [Accessed May 1, 2017].
- Reinhardt, M. et al., 2015. A Human Thrifty Phenotype Associated With Less

- Weight Loss During Caloric Restriction. *Diabetes*, 64(8), pp.2859–2867. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25964395> [Accessed February 11, 2018].
- Ríos-Hoyo, A. & Gutiérrez-Salmeán, G., 2016. New Dietary Supplements for Obesity: What We Currently Know. *Current obesity reports*, 5(2), pp.262–70. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s13679-016-0214-y> [Accessed August 24, 2017].
- Rtveladze, K. et al., 2013. Health and economic burden of obesity in Brazil. *PloS one*, 8(7), p.e68785. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23874763> [Accessed February 18, 2018].
- Santos, M.C., Ferrerira, A.M.V. & NAvarro, F., 2007. Avaliação do IMC e do percentual de gordura em mulheres na fase puerperal e suas correlações co o ganho de peso e a prática de exercício físico durante a gestação. *Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício*, 1(2), pp.35–45.
- Santos, S.G. & Melo, S.I., 2000. Antropometria em Biomecânica: Características, Princípios e Modelos Antropométricos. *Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano*.
- Scuteri, A. et al., 2007. Genome-Wide Association Scan Shows Genetic Variants in the FTO Gene Are Associated with Obesity-Related Traits. *PLoS Genetics*, 3(7), p.e115. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17658951> [Accessed February 18, 2018].
- Semwal, R.B. et al., 2015. A comprehensive scientific overview of Garcinia cambogia. *Fitoterapia*, 102, pp.134–148. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25732350> [Accessed August 24, 2017].
- Sethi, A., 2011. A review on “Garciniacambogia – a weight controll in gagent”. *IJPRD*, 3, pp.13–24.
- Shima, K. et al., 1983. Effect of Dietary Fiber, Glucomannan, on Absorption of Sulfonylurea in Man. *Hormone and Metabolic Research*, 15(1), pp.1–3. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6299917> [Accessed May 18, 2017].

- Smith, C.E. & Ordovás, J.M., 2012. Update on perilipin polymorphisms and obesity. *Nutrition Reviews*, 70(10), pp.611–621. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23035807> [Accessed June 14, 2017].
- Snyder, E.E. et al., 2004. The human obesity gene map: the 2003 update. *Obesity research*, 12(3), pp.369–439. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1038/oby.2004.47> [Accessed May 1, 2017].
- Sobral, F., 1985. *Perfil Morfológico e Prestação Desportiva: Estudo Antropométrico do Desportista de Alto Nível de Rendimento* No Title, Lisboa.
- Sood, N., Baker, W.L. & Coleman, C.I., 2008a. Effect of glucomannan on plasma lipid and glucose concentrations, body weight, and blood pressure: systematic review and meta-analysis. *The American journal of clinical nutrition*, 88(4), pp.1167–75. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18842808> [Accessed August 25, 2017].
- Sood, N., Baker, W.L. & Coleman, C.I., 2008b. Effect of glucomannan on plasma lipid and glucose concentrations, body weight, and blood pressure: systematic review and meta-analysis. *The American journal of clinical nutrition*, 88(4), pp.1167–75. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18842808> [Accessed May 18, 2017].
- Speakman, J.R., 2015. The “Fat Mass and Obesity Related” (FTO) gene: Mechanisms of Impact on Obesity and Energy Balance. *Current obesity reports*, 4(1), pp.73–91. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s13679-015-0143-1> [Accessed June 14, 2017].
- Speliotes, E.K. et al., 2010. Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nature genetics*, 42(11), pp.937–48. Available at: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ng.686> [Accessed May 1, 2017].
- Spiegelman, B.M. & Flier, J.S., 2001. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell*, 104(4), pp.531–43. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11239410> [Accessed May 8, 2017].
- Sun, N.-N., Wu, T.-Y. & Chau, C.-F., 2016. Natural Dietary and Herbal Products

- in Anti-Obesity Treatment. *Molecules*, 21(10), p.1351. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27727194> [Accessed May 18, 2017].
- Toromanyan, E. et al., 2007. Efficacy of Slim339 in reducing body weight of overweight and obese human subjects. *Phytotherapy research : PTR*, 21(12), pp.1177–81. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/ptr.2231> [Accessed August 25, 2017].
- Varady, K.A. & Hellerstein, M.K., 2008. Do calorie restriction or alternate-day fasting regimens modulate adipose tissue physiology in a way that reduces chronic disease risk? *Nutrition Reviews*, 66(6), pp.333–342. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18522622> [Accessed February 2, 2018].
- Vasques, C.A.R. et al., 2008. Evaluation of the pharmacotherapeutic efficacy of Garcinia cambogia plus Amorphophallus konjac for the treatment of obesity. *Phytotherapy research : PTR*, 22(9), pp.1135–40. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/ptr.2323> [Accessed August 24, 2017].
- Vido, L. et al., 1993. Childhood obesity treatment: double blinded trial on dietary fibres (glucomannan) versus placebo. *Padiatrie und Padologie*, 28(5), pp.133–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8247594> [Accessed August 25, 2017].
- Vuksan, V. et al., 2000. Beneficial effects of viscous dietary fiber from Konjac-mannan in subjects with the insulin resistance syndrome: results of a controlled metabolic trial. *Diabetes care*, 23(1), pp.9–14. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10857960> [Accessed August 25, 2017].
- Walsh, D.E., Yaghoubian, V. & Behforooz, A., 1984. Effect of glucomannan on obese patients: a clinical study. *International journal of obesity*, 8(4), pp.289–93. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6096282> [Accessed August 25, 2017].
- Wang, Y.C. et al., 2011. Health and economic burden of the projected obesity trends in the USA and the UK. *The Lancet*, 378(9793), pp.815–825. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21872750> [Accessed February 18, 2018].
- Wannamethee, S.G., Shaper, A.G. & Walker, M., 2001. Weight change, body

- weight and mortality: the impact of smoking and ill health. *International journal of epidemiology*, 30(4), pp.777–86. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11511602> [Accessed February 17, 2018].
- Wardle, J. et al., 2008. Obesity Associated Genetic Variation in *FTO* Is Associated with Diminished Satiety. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 93(9), pp.3640–3643. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18583465> [Accessed February 1, 2018].
- WEIR, J.B.D.B., 1949. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *The Journal of physiology*, 109(1–2), pp.1–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15394301> [Accessed August 26, 2017].
- Wells, J.C.K. & Fewtrell, M.S., 2005. Measuring body composition. *Archives of Disease in Childhood*, 91(7), pp.612–617. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16790722> [Accessed January 15, 2018].
- Widén, E. et al., 1995. Association of a Polymorphism in the β_3 -Adrenergic-Receptor Gene with Features of the Insulin Resistance Syndrome in Finns. *New England Journal of Medicine*, 333(6), pp.348–352. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7609751> [Accessed June 6, 2017].
- Williams, E.P. et al., 2015. Overweight and Obesity: Prevalence, Consequences, and Causes of a Growing Public Health Problem. *Current Obesity Reports*, 4(3), pp.363–370. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26627494> [Accessed February 11, 2018].
- Wolf, G., 1997. Neuropeptides responding to leptin. *Nutrition reviews*, 55(3), pp.85–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9170895> [Accessed February 1, 2018].
- Yoshida, M. et al., 2006. Effect of plant sterols and glucomannan on lipids in individuals with and without type II diabetes. *European journal of clinical nutrition*, 60(4), pp.529–37. Available at: <http://www.nature.com/doi/10.1038/sj.ejcn.1602347> [Accessed

August 25, 2017].

Zhang, Y. et al., 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372(6505), pp.425–432. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7984236> [Accessed February 11, 2018].

8 ANEXOS

8.1 ANEXO I – PROTOCOLO CLÍNICO

1. OBJETIVOS.

El objetivo principal del estudio es la identificación de los pacientes con sobrepeso u obesos tratados farmacológicamente y la influencia del polimorfismo genético en la respuesta metabólica y el desarrollo de la obesidad.

El desarrollo y seguimiento de este estudio se realizará en tres fases: Estudio inicial (Pretest), a los tres meses y a los 6 meses, donde se hará:

- Seguimiento de adhesión a la dieta estandarizada
- Estudio de la composición corporal, gasto energético y el estudio metabólico basal.

2. CAPTACIÓN.

En la consulta a demanda, por el personal de enfermería y medicina.

3. CRITERIOS.

La población incluida en el estudio serán hombres y mujeres en edad adulta con sobrepeso u obesidad que cumplan los siguientes criterios:

3.1 Criterios de inclusión:

- Índice de Masa Corpórea (IMC) mayor que 30.
- Criterios de Adiposidad
- Consentimiento informado

3.2 Criterios de exclusión:

- No tener patologías asociadas como: Hepatopatías, Nefropatías, Cardiopatías.
- No presentar enfermedades endocrinas, excepto Síndrome Metabólico y
- Diabetes Mellitus tipo 2.

4. ENCUESTA NUTRICIONAL.

La encuesta nutricional evalúa el consumo de alimentos, la ingesta de energía, conoce la ingesta alimentaria, evalúa las fuentes alimentarias del consumo de energía y nutrientes, explora conocimientos y actitudes en relación a la alimentación y nutrición, relaciona los hábitos alimentarios con otros estilos de vida y factores de riesgo

4.1. Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos.

- El paciente irá describir la frecuencia de consumo de alimentos, cantidades y su uso promedio anual.
- La versión utilizada será la versión actualizada del Cuestionario de Frecuencia de consumo de Alimentos (Martin-Moreno et al. 1993).

4.2. Registro Dietético

- Irá recoger la información exacta acerca de qué y cuanto come el paciente normalmente.
- El registro será realizado en 3 días: 2 de entre semana y 1 de fin de semana.

5. ACTIVIDADES.

5.1. Clínica:

Cada paciente tendrá su ficha con el historial clínico individualizado, numero de registro, evaluaciones, evolución clínica y resultados.

- ANAMNESIS: Historial Clínico, Antecedentes familiares, personales y hábitos de vida.
- EXPLORACIÓN FÍSICA: Aparatos y Sistemas.
- COMPOSICIÓN CORPORAL: Antropometría, Impedancia Bioeléctrica, Futrex 5000, Body fat and Fitness Computa (Infrarrojo), conforme las normas de aplicación.
- IMPEDANCIA BIOELÉCTRICA
- La evaluación por Impedancia bioeléctrica será realizada en posición supina durante 15 minutos. Todas estas estimaciones se realizarán mediante los más avanzados programas informáticos (Tanita Bioscan). Se seguirán todos los pasos recomendados por el fabricante del equipo y las normas de aplicación.
- CONSUMO ENERGÉTICO EN REPOSO: Kcal reales, Kcal predichas VO₂, VCO₂, Cociente respiratorio (RQ).
- Una vez realizadas las medidas anteriores los pacientes serán conducidos a una camilla de la clínica donde estarán en reposo durante un período de 30 minutos

antes de la realización de la medida basal del consumo energético para evaluar el gasto energético basal. Serán adoptados todos los cuidados, referentes al ambiente, condiciones relacionadas con el paciente y aspectos técnicos referidos al monitor metabólico antes y durante la realización de la calorimetría indirecta. La evaluación dura 15 minutos, cada paciente llevará máscara y el gasto energético será calculado por el aparato a partir de la medición del consumo de O₂ y dispendio de CO₂.

- Todos los individuos serán orientados a orinar 30 minutos antes de la evaluación por la impedancia bioeléctrica, y las evaluaciones de las mujeres serán realizadas como máximo 7 días después de la menstruación.

6. Protocolos de análisis de Laboratorio.

Los análisis de laboratorio serán realizados de acuerdo con las normas de aplicación de los protocolos determinados por el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Reina Sofía.

Las determinaciones se llevarán a cabo tras 12 horas de ayuno, en muestras procedentes de extracciones de sangre venosa, manteniendo al paciente en decúbito supino y sin compresión. Las muestras se procesarán de forma convencional, centrifugándolas y transportándolas en hielo para su estudio inmediato y almacenándolas a -80 °C.

El desarrollo y seguimiento de este estudio se realizará en tres fases: Pretest, a los tres meses y a los 6 meses, en las que se realizarán los siguientes procedimientos:

- Estudio de Lipoproteínas: Colesterol total, Triglicéridos, HDL, LDL, ApoA, ApoB.
- Determinaciones bioquímicas: glucosa, insulina, colesterol total, triglicéridos
- HDL-C, urea, ácido úrico, hemograma.
- Test de tolerancia a la glucosa (OGTT)
- Determinación de parámetros de inflamación y coagulación (Conservar)
- Test resistencia a la insulina.
- Aislamiento del ADN (Conservar)

6.1. Recogida de muestras en ayunas

La sangre recogida en los tubos K3-EDTA, citrato, oxalato y heparina litio deben ser invertidos 8-10 veces para asegurar que el coagulante se mezcle.

Los tubos de citrato deben estar en hielo antes de la extracción.

Todas las muestras, excepto las recogidas en los tubos de suero, deben ponerse en hielo después de la extracción.

6.2. Extracciones sanguíneas

En cada uno de los tiempos indicados se realizarán extracciones de 28 ml de sangre venosa: 20 ml en tubos conteniendo EDTA (7.5%, 0.072ml de EDTA, BD Vacutainer K3E, Plymouth-UK), 4 ml en un tubo conteniendo Citrato (Tri-Sodium Citrate solution 0.0129M, BD Vacutainer 9NC, Plymouth-UK) manteniéndolos a 4°C y 4 mL en tubo de pruebas cruzadas. Todos los tubos se protegerán de la luz. El plasma se separará del resto de células por centrifugación a 2500 rpm durante 15 min a 4°C. La capa de células se guardará a -80°C y su finalidad será aislar el ADN. Para minimizar la degradación proteolítica, el plasma procedente de los tubos con EDTA, citrato y suero se introducirá en tubos conteniendo 1 µl/ml de phenylmethylsulfonylfluoride (PMSF, Sigma) 10 mM diluido en isopropanol y 5 µl/ml de aprotinina (Trasylol, Bayer, Leverkusen, Germany) 1.400 µg/l. Así, 3-4 ml de plasma procedente de cada tipo de tubo se almacenarán, a -80°C, en alícuotas de 300-µl para posteriormente proceder con los distintos análisis bioquímicos.

6.3. Aislamiento de células mononucleares.

Las células mononucleares se aislarán mediante un gradiente de Ficoll.

1. Centrifugar la sangre a 2500 rpm, 10 min, 20°C (Para eliminar plaquetas centrifugar a 3000 rpm, 10 min, 4°C)
2. Diluir a la mitad con PBS (añadir un volumen igual de PBS)
3. Superponer en capa el doble volumen de Ficoll.
4. Centrifugar a 2500 rpm sin freno, 20 min, 4°C.
5. Recoger la capa intermedia de células y resuspender en 10 mL de PBS
6. Centrifugar a 1800 rpm, 8 min, 4°C
7. Eliminar el sobrenante y resuspender en 4 mL de PBS. Repartir 2ml en cada uno de los dos criotubos.
8. Centrifugar a 1800 rpm, 8 min, 4°C.
9. Eliminar el sobrenadante
10. Resuspender un criotubo con 400 µL de Buffer A y el otro en seco con nitrógeno. Almacenar ambos a -80 °C.
 - Buffer A:
 - 10 mL HEPES
 - 15 mM KCL
 - 2 mM MgCL₂
 - 1 mM EDTA

6.4. Analisis Lipidos

El colesterol y triglicéridos de las fracciones lipoproteicas se determinarán mediante test colorimétrico enzimático Abbott- laboratorios. El plasma para estos análisis precederá de tubos con EDTA. La apo A-I y apo B se determinaran por Immunoturbidimetria en plasma obtenido a partir de tubos que contienen EDTA. Todos los ensayos se realizaran mediante un analizador químico clínico automatizado (Hitachi Modular DDPP, Roche. Se utilizaran los reactivos c-fas (Roche, Mannheim-Alemania, para el control de calidad. El HDL-C se determinará analizando el sobrenadante obtenido tras la precipitación del plasma con sulfato dextrano y Mg^{2+} y además con un test colorimétrico enzimático. El Colesterol LDL (LDL-C) se obtendrá mediante la fórmula de Friedewald (Clin Chem 1972; 18: 499-502). Las diferentes lipoproteinas plasmáticas (VLDL, LDL, HDL) se aislarán por ultracentrifugación en gradiente de densidad en un rotor Beckman tipo Ty 70.1 (45.000 rpm, 4 °C, 22 horas).

Además, se determinará la composición en ácidos grasos de los ésteres de colesterol de las LDL aisladas tras el periodo de intervención dietética.

Las concentraciones plasmáticas de insulina se determinará, en tubos con oxalato, por inmunoensayo enzimático (Abbott Diagnostics) utilizando un AxSYM system analyzer (Abbott Laboratories). Las concentraciones de glucosa se determinarán, en tubos con EDTA.

Las concentraciones plasmáticas postprandiales de ácidos grasos libres se determinaran los tiempos 0, 2, 4 y 6 tras la ingesta aguda de grasa. Se determinara por ensayo colorimétrico enzimático mediante un kit comercial, Free fatty acids, Half-micro test (Roche Diagnostic GmbH)

6.5. Condiciones de centrifugación:

Tubos	Análisis	Condiciones
Fluoride oxalate.	Glucosa	1. 3000rpm, 10 min, 4°C 2. Alicuotar 3. Congelar a -20 °C
Suero.	Insulina	1.Reposar tubos 30 min a tª ambiente 2. 3000rpm, 10min, 4°C 3. Alicuotar y almacenar a -80°C
EDTA.	Colesterol, TG, HDL-C, LDL-C Urea, Creatinina, sodio, potasio, hemograma Buffy coat	1. 3000rpm, 10 min, 4°C 2. Retirar el plasma 3. Recoger la capa de linfocitos 4. Alicuotar muestras de plasma y congelar a -80°C 5. Pipetear 1 ml de la capa blanca (Buffy coat) a un tubo, y almacenar a -80 °C

7. ASPECTOS TERAPÉUTICOS:

- Realizar actividades orientadas a:
- Corregir el sobrepeso u obesidad
- Modificar estilos de vida que comporten riesgo para patologías asociadas
- No fumar.
- Moderar el consumo de alcohol.

8. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO.

- El tratamiento farmacológico puede demorarse según el paciente.
- Extractos de plantas medicinales (Garcinia Cambogia y Amorphophalus Konjak).

9. DIETA INDICADA.

La dieta mediterránea estandarizada será la indicada con:

- Horario Regular para las comidas.
- Comer tres veces al día.
- No es permitido comer entre las principales comidas.
- Beber dos litros de agua diarios
- Seguir indicaciones de la lista de los alimentos que se pueden tomar y los que no se pueden.

9.1. Los hidratos de carbono deben proporcionar el 50% del aporte energético total diario.

Conviene que sean carbohidratos complejos (pastas, arroz, patata, pan y legumbres) y no simples (helados y bollería). Las frutas y verduras, ricos a su vez en fibra, nos asegure las suficientes vitaminas y minerales .

9.2. Las grasas o lípidos aportarán aproximadamente el 35% del aporte energético total.

Se preferirán las grasas de origen vegetal, (frutos secos, aceite de oliva) a las de origen animal. Una excepción es la de los pescados azules (caballa, atún, sardina) porque es poliinsaturada y contribuye a prevenir problemas cardiovasculares. La ingesta de ácidos grasos saturados debería situarse por debajo del 10%. La ingesta de ácidos grasos poliinsaturados no debería ser superior al 8% del consumo energético. La ingesta de ácidos grasos monoinsaturados debería proporcionar un aporte energético como máximo del 15%.

9.3. Las proteínas aportarán el 15% de la energía total.

Las proteínas ayudan a regenerar el tejido del organismo. La proteína de origen animal (huevos, leche, carne y pescados) es más completa que la de origen vegetal (legumbres y cereales). Sin embargo, los vegetales debidamente combinados (por ejemplo, lentejas con arroz) aportan una proteína de calidad similar a la animal, pero sin colesterol ni grasas saturada.

10. RECOMENDACIONES DE SEGUIMIENTO.

- A cada cuatro semanas del inicio del estudio el paciente retornará a la consulta para seguimiento de adhesión a la dieta (valoración del control de pérdida de peso, valoración farmacológica y tolerancia del mismo y seguimiento de la dieta).
- Al tiempo cero se realizará el estudio metabólico completo, estudio de la composición corporal y el gasto energético.
- A los tres y seis meses se repetirán el estudio metabólico, estudio de la composición corporal y el gasto energético.

8.2 ANEXO II– FICHA HISTORIAL CLINICO (INDIVIDUAL)

A. HISTORIAL CLINICO:

Historia N°.....Obesidad Fecha.....
DNI.....Otro tipo de consulta Fecha Nacimiento.....
Apellido.....Nombre.....
Domicilio.....Ciudad.....
Provincia.....D.P.....Tfn.....Edad.....Sexo.....Profesión.....

B. ANTECEDENTES PERSONALES:

Tabaco.....cantidad.....
Alcohol.....cantidad.....
otro tipo de Drogas.....
Uso de medicación.....
Tratamientos anteriores para perdida de peso.....
Duración..... Tipo de tratamiento.....
Enfermedades Padecidas.....
.....
Otras Enfermedades.....
Cirugías anteriores.....

C. ANTECEDENTES FAMILIARES:

Obesidad.....HTA.....Diabetes.....
Otras Enfermedades.....

D. EXPLORACIÓN:

- **Composición corporal**

Antropometría: Peso actual.....Estatura..... IMC.....Peso ideal.....

a) **Pruebas complementarias:** ver tabla I

b) **Consumo energético en reposo:** Ver tabla II

c) **Impedanciometria bioeléctrica:** ver tabla III

a) **Aparatos e sistemas:**

Piel y anexos.....

Cuello.....

Corazón.....

Pulmón.....

Abdomen.....

Riñón.....

Extremidades.....

Sistema nervioso.....

b) **Diagnóstico**

.....

.....

.....

c) **Tratamiento Farmacológico**

.....

.....

.....

d) **Tratamiento complementario**

.....

.....

I. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS: RESULTADOS

PRUEBA	FECHA	TIEMPO CERO	3 MESES	6 MESES
Colesterol				
Trigliceridos				
HDL				
LDL				
Apo A				
Apo B				
Urea				
Creatinina				
TGO(AST)				
TGP(ALT)				
Glucemia				
Insulina				
TSH				
TP				
TTPA				
Hemograma: Hb, Ht.				

II. CONSUMO ENERGERTICO EN REPOSO

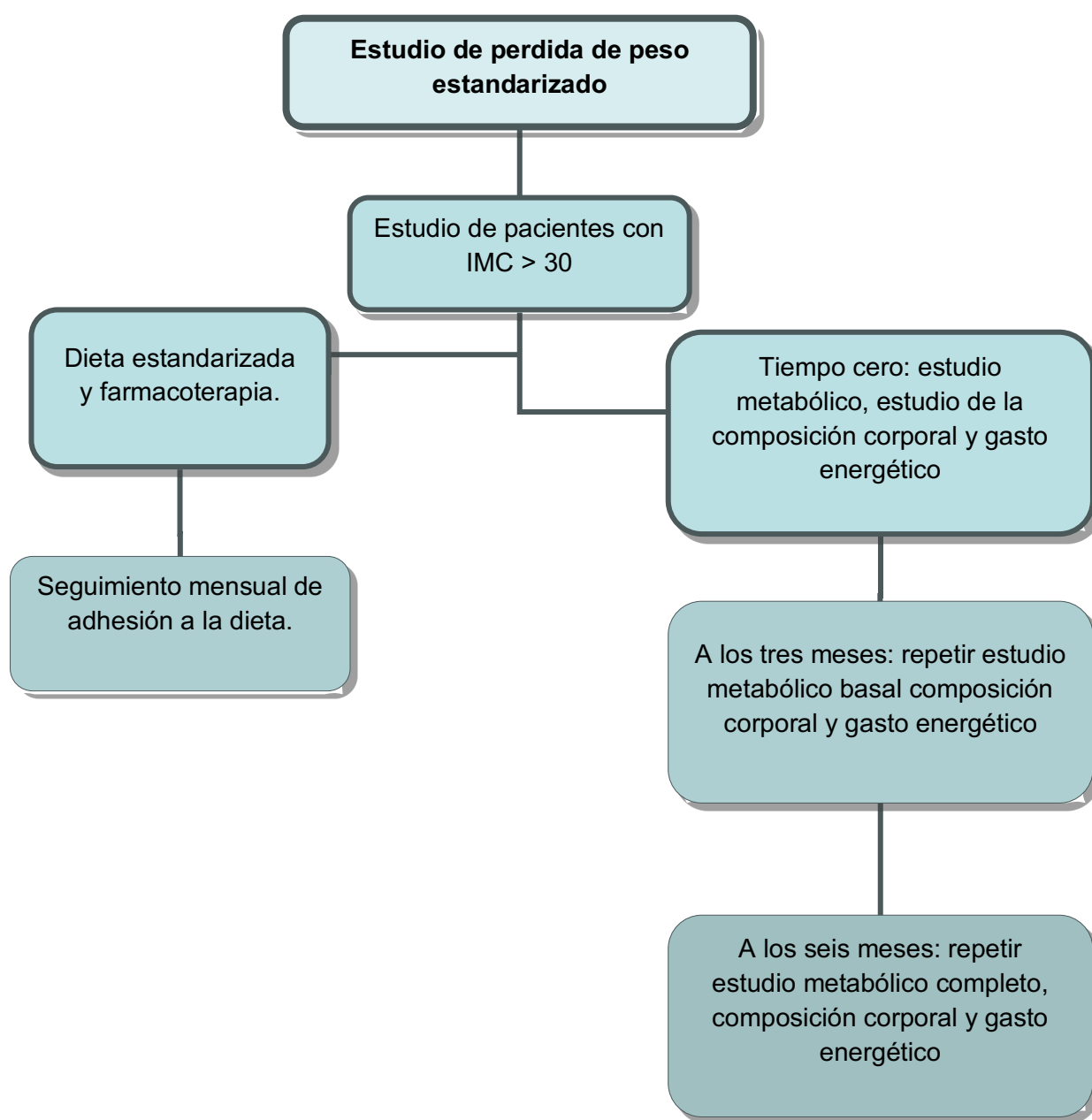
PRUEBA	TIEMPO CERO	3 MESES	6 MESES
Kcal reales			
Kcal predichas			
VO ₂			
VCO ₂			
RQ			

III. IMPEDANCIOMETRIA BIOELETRICA

PRUEBA	TIEMPO CERO	3 MESES	6 MESES
Masa grasa			

Masa libre grasa			
Pliegues cutaneos: Futrex			
Biceps			
Triceps			
Subescapular			
Supracrestal			

8.3ANEXO III – ORGANOGRAMA DEL ESTUDIO DE LA PERDIDA DE PESO



8.4 PUBLICACIONES DERIVADAS DEL ESTUDIO

Maia-Landim et al. *BMC Complementary and Alternative Medicine* (2018) 18:26
DOI 10.1186/s12906-018-2099-7

BMC Complementary and
Alternative Medicine

RESEARCH ARTICLE

Open Access



Long-term effects of *Garcinia cambogia*/ Glucomannan on weight loss in people with obesity, PLIN4, FTO and Trp64Arg polymorphisms

Andrea Maia-Landim¹, Juan M. Ramírez¹, Carolina Lancho², María S. Poblador¹ and José L. Lancho^{1*}

Abstract

Background: Overweight and obesity are considered major health problems that contribute to increase mortality and quality of life. Both conditions have a high prevalence across the world reaching epidemic numbers. Our aim was to evaluate the effects of the administration of *Garcinia cambogia* (GC) and Glucomannan (GNN) on long-term weight loss in people with overweight or obesity.

Methods: Prospective, not-randomized controlled intervention trial was conducted. We treated 214 subjects with overweight or obesity with GC and GNN (500 mg twice a day, each) for 6 months evaluating weight, fat mass, visceral fat, basal metabolic rate, and lipid and glucose blood profiles comparing them with basal values. Some patients were carriers of polymorphisms PLIN4 -11482G > A-, fat mass and obesity-associated (FTO) -rs9939609 A/T- and β -adrenergic receptor 3 (ADRB3) -Trp64Arg.

Results: Treatment produced weight loss, reducing fat mass, visceral fat, lipid and blood glucose profiles while increasing basal metabolic rate. Results were independent of sex, age or suffering from hypertension, diabetes mellitus type 2 or dyslipidemia and were attenuated in carriers of PLIN4, FTO, Trp64Arg polymorphisms.

Conclusions: Administration of GC and GNN reduce weight and improve lipid and glucose blood profiles in people with overweight or obesity, although the presence of polymorphisms PLIN4, FTO and ADRB3 might hinder in some degree these effects. ISRCTN78807585, 19 September 2017, retrospective study.

Keywords: Overweight, Obesity, Polymorphisms

Background

Obesity may be defined as abnormal or excessive fat accumulation that impairs health [1]. This illness is a global pandemic with a high prevalence in western societies that is also fast spreading across developed countries [1]. In 2008 was estimated that about 1.46 billion people suffer from overweight in the world and of them 504 million were people with obesity [2]. Obesity and its comorbidities represent a social-economic burden that reduce life expectancy and it has been associated with suffering from osteoarthritis, fatty liver, cardiovascular

disease, digestive problems, diabetes mellitus type 2 (DM2) and even different kinds of cancer [2–4]. In childhood, in which overweight and obesity numbers are dramatically increasing, other pathologies such as orthopedic complications, breathing problems and psychological disorders have also been reported [5]. For practical reasons, overweight is defined as body mass index (BMI, weight in kg divided by height squared m², also known as Quetelet's index) between 25 and 30 and obesity when BMI > 30 [6].

The causes of obesity are several, although and increase in calories ingested together with sedentary way of life are intrinsically associated to its development being both of them preventable [7]. Other causes also linked to obesity are socioeconomic factors, birth weight, pollution, stress

* Correspondence: cm1asl@uco.es

¹Department of Morphological Sciences, School of Medicine, University of Córdoba, Avenida de Menéndez Pidal s/n, 14071 Córdoba, Spain
Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2018 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

and microbial infections [8, 9]. Genetic background also plays a key role in obesity development [10]. Studies carried out in twins reported that obesity might be heritable component between 40 and 75% [11] and multiple genetics syndromes has been related to obesity [12]. Thus, some polymorphism present in genes such as Fat mass and obesity-associated (*FTO*), Penlipin (*PLIN*) and β -adrenergic receptor 3 (*ADRB3*) have been studied associated with obesity development. *FTO* is located in humans in chromosome 16 and codifies the enzyme 2-oxoglutarate nucleic acid dependent demethylase that is expressed in the hypothalamus and regulates food intake [13]. Variations of *FTO* gene has been associated to an increase in food intake [14]. In particular, polymorphism rs9939609 A/T has been associated to regulation of satiety feeling [15]. On the other hand, it has been reported that *PLIN* gene (located in chromosome 15) and with several described polymorphism such as *PLIN1* 6209 T \rightarrow C, *PLIN4* 11482G \rightarrow A and *PLIN6* 14995A \rightarrow T have been associated with obesity development or protection [16, 17]. Penlipin 1, is a protein present in adipocytes that play an important role in fat accumulation and mobilization, covering the lipids droplets protecting them from lipase enzymatic action [18]. In addition, *ADRB3* polymorphism Trp64Arg has been strongly associated to obesity and DM2 [19]. Activation of this receptor plays a role in lipolysis and thermogenesis regulation [15].

Different strategies have been proposed to deal with obesity epidemic. Caloric restriction combined with exercise are the most used one against this disease and in cases of extreme obesity, surgical intervention is recommended [20]. Other strategies include the use of herbal medicinal products from *Garcinia cambogia* (GC) and Glucomannan that have reported to be positive in relation to control and loss weight [21–25]. GC is a fruit that naturally grows in South Asia and Indian forest with a high content of hydroxycitric acid (AHC). AHC inhibits lipogenesis impairing hydrocarbon conversion in lipids. AHC produces the inhibition of ATP-citrate liase, an enzyme that is required for the first step in lipogenesis process. AHC action also increments glycogen hepatic deposit, decrease appetite and reduces weight gain [26]. On the other hand, GNN is a fiber composed of β 1,4-linked D mannose and D-glucose monomers extracted from a tuber called *Amorphophallus konjac* [27]. In spite of GNN mechanism of action has not yet been fully understood, some authors have suggested, that given that GNN is able to absorb 50 times its weight in water volume, this fiber would fill up the stomach resulting in a delayed gastric emptying causing a satiety feeling and reducing the appetite [28].

In this work, we aimed to assess whether a controlled diet supplemented with GC and GNN was able to reduce weight after 3 and 6 months in people with overweight or obesity. We also wanted to evaluate if this

reduction was modified by the presence in the patients of different genetic polymorphism related to *FTO* (rs9939609 A/T), *PLIN4* (11482G \rightarrow A) and *ADRB3* Trp64Arg.

Methods

Patients

This study was designed as a prospective, not-randomized controlled intervention trial to test differences in matched pairs. A Transparent Reporting of Evaluations with Non-randomized Designs (TREND) checklist of the study and a flowchart diagram regarding subjects enrollment, follow-up, allocation and interventions have been included as supplementary material (Additional file 1: Table S1 and Additional file 2: Fig. S1). Patients from both sex and different ages were recruited from february 2015 to march 2017 ($n = 214$). All of them were above 18 years old and have an IMC > 25 . We included subjects suffering dyslipidemias, hypertension, DM2 or their combinations. These patients were under treatment for hypertension, DM2 or dyslipidemias for a range of 2 months to 4 years before study onset. Exclusion criteria included: pregnancy or lactation, gastropathy or gastrointestinal weight-reducing surgery, stopped smoking during the past 6 months, kidney disease, history of recurrent kidney stones, liver dysfunction, untreated high blood pressure, history or symptoms of gallstones, cancer, history of endocrine disorders (particularly hypothyroidism), history of bulimia and/or laxative abuse, mental disorders with impaired independence, history of alcohol or other drug abuse. Patient's main characteristics are summarized in Table 1. All of them were evaluated at 3 and 6 months from study onset in Scientifics Aesthetics Clinics of the body from Córdoba, Sevilla and Huelva (Spain) or from Hospital e Maternidade São Francisco de Assis, Crato, (Brasil). All of them complete, previously to study onset, a form to evaluate their medical history.

Pharmacological treatment

Patients were advised to have a balanced diet (Mediterranean diet), regular meals and intake of plenty of water. Standardized extracts of GC (52.4% HCA) and *A. konjac* (94.9%, Glucomannan) were administered separately in capsules of 500 mg each of them. We treated the patients with GC (500 mg), twice a day, half an hour before lunch and dinner and GNN (500 mg), twice a day, half an hour before lunch and dinner. It was recommended to patients to practice physical exercise, avoid smoking, and control alcohol intake.

Anthropometric measurements

Anthropometric measurements and body composition: Body mass was measured on a digital balance (HD-305 TanitaTM) to the nearest 0.1 kg, and the height was

Table 1 Subjects description by sex, age, BMI and polymorphism

Characteristic		Number	%
Sex	Male	122	57
	Female	99	43
BMI	25–30	125	58.41
	30–40	83	38.78
	> 40	6	2.80
Polymorphism	No "Normal"	138	64.48
	PLIN4 (11482G > A)	25	11.68
	FTO (rs9939609 A/T)	26	12.14
	ADRB3 (Trp64Arg)	25	11.68
Comorbidities	DM2	16	7.47
	H	42	19.62
	D	46	21.49
	H + D	52	24.29
	DM2 + H + D	58	27.10

DM2: Diabetes mellitus type 2; H: Hypertension arterial; D: dyslipidemia

measured with a Seca Bodymeter 206 to the nearest 0.1 cm. These data were used to calculate body mass index (BMI kg/m²).

Bioelectrical impedance was performed with a BioScan Spectrum operating at 50 KHz, measuring fat mass. Briefly, percentage fat mass (%FM) and fat free mass (FFM) were measured in 12 h fasted subjects on a restricted physical-activity schedule. FFM was assessed using the equation [29]: $FFM (kg) = 0.340 (h^2/R) + 0.1534 (h) + 0.273 (BM) - 0.127 (age) + 4.56 (sex) - 12.44$ where: h is the height (cm), R is the resistance (ohm) and female = 0, male = 1.

Basal Metabolic rate (BMR) was assessed by indirect calorimetry, using a TEEEM 100* (INBRASPORT) calorimeter: 12 h fasted subjects on a restricted exercise schedule lay on their backs in a silent room at a mean temperature of 24 ± 1 °C, and VO₂ and VCO₂ were recorded over a 15 min period; data obtained over the last 10 min were used to calculate BMR. BMR estimation was based on Weir eq. [30]: $BMR (kcal/min) = [3.9(VO_2) + 1.1(VCO_2)]$. The value obtained was multiplied by 1440 in order to estimate BMR for 24 h (kcal/day). BMR was also calculated from the relationship with BM or FFM (kcal/kg/24 h). Additionally, mean values for the respiratory quotient (RQ), VO₂ (L/min) and metabolic equivalent (MET) were also obtained, taking 1 MET to be equal to an expenditure of 3.5 mL O₂/kg/min.

Blood analysis

Blood extraction was carried out using a clinical routine laboratory protocol after 12 h of patients fasting. Patients were advised to refrain from perform exercise or consuming alcohol

food with lipid composition similar to that ingested during the months the study took place. Glucose concentrations, cholesterol and triglycerides levels were measured using a colorimetric enzyme assay method (CEPA* kits – MBIolog Diagnósticos Ltda.) as previously described [31].

Genetic analysis

Total DNA was isolated from mononuclear cell present in periphery blood through a Ficol gradient. DNA was extracted from this fraction using chloroform-isoamyl alcohol method. DNA was quantified with a spectrophotometer reading absorbance at 260 nm. This DNA was used to analyze whether the patients carry the different polymorphism under study. The presence of FTO rs9939609 A/T was analyzed through restriction fragment length polymorphism (RFLP), where primers were F 5'-GGT TCC TTGCGA CTG CTG TGA AAT T'3 and R 5'-GCT TTT ATGCTC TCC CAC TC'3. After PCR, amplicons were subject to action of ApeI restriction enzyme and RFLP fragments were analyzed in agarose gel as previously reported [32]. Presence of PLIN4 11482G > A, polymorphism was analyzed using allelic discrimination assay with Taqman probes in an Abi Prism 7500* (Applied biosystems) as previously described [16]. Presence of ADRB3 trp64Arg polymorphism was also analyzed through RFLP technique. Primers used were Forward 5'-CGCCCAATA CCGCCAACAC-3' and reverse 5'-CCACCAGGA GTCCCATCACC-3' and the resulting amplicon was digested with BstOI restriction enzyme as previously described [33].

Statistic

Results are presented as mean ± SEM. We use SPSS® r22 to perform an analysis of covariance to find out if there were significant differences among measurements and the possible influence of different variables such as sex, polymorphism and disease. Pearson correlation test was used to discard possible influence of age (that is a continuous variable) in the results. A posteriori Tukey test run to analyze differences as considered appropriate. We considered a $p < 0.05$ as significant. We estimated sample size (n) by power analysis running the following parameters in G*power (V3.1.9.2). These parameters were type I and II errors of 5 and 95% respectively, and an effect size of 0.25. With these parameters the G*power estimated that the minimum sample size to find any significant differences should be a minimum of 210.

Results

Intervention effect in weight and basal metabolic rate, fat mass and visceral fat

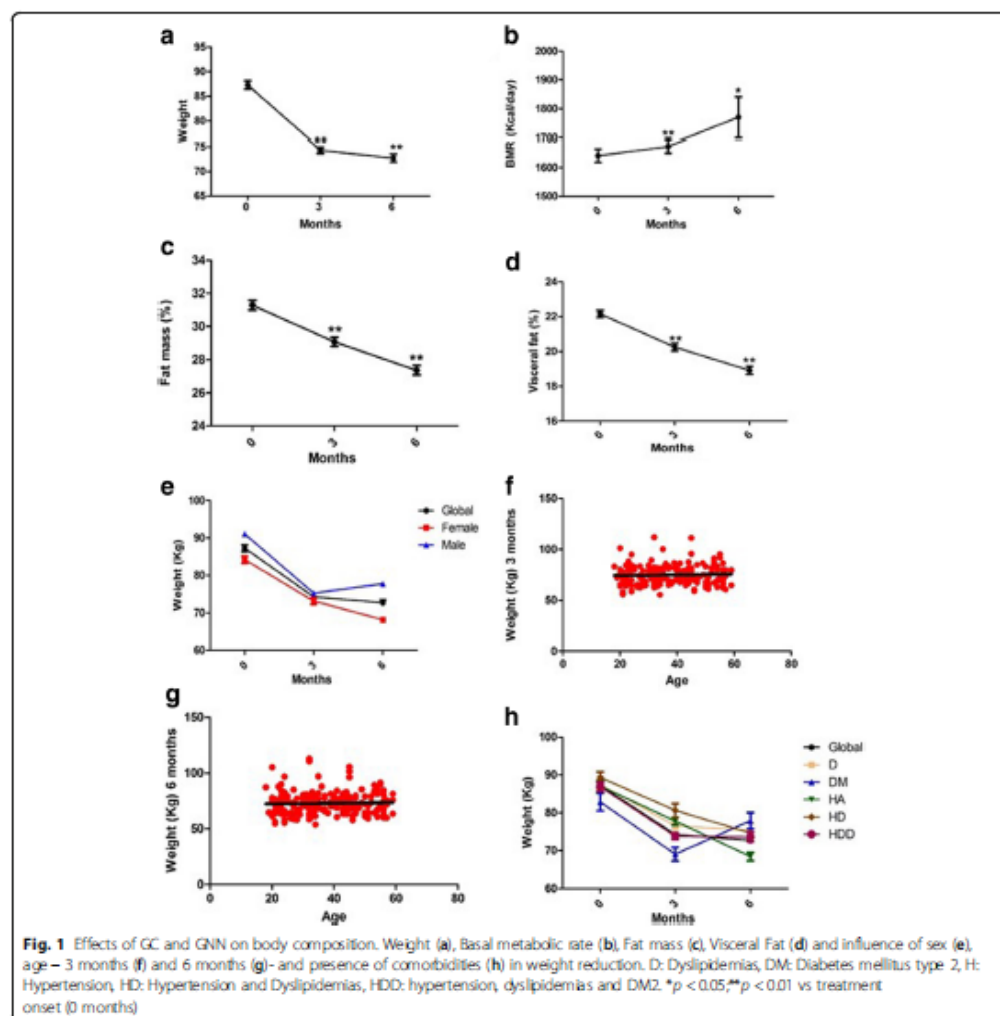
We first analyzed whether the treatment of people with N had any effect

of weight, metabolic basal rate, fat mass and visceral fat. We found a dramatic, highly significant and sustained reduction of weight at 3 and 6 months compared with the start of the study (Fig. 1a). This decrease was parallel to a highly significant and significant increase in metabolic basal rate in 3 months 6 months respectively (Fig. 1b). Weight loss was also related to a highly significant reduction of fat mass and visceral fat in 3 and 6 months (Fig. 1c). Weight decrease was independent of sex, age, or suffering from hypertension, DM2, dyslipidemias or their combinations (Fig. 1d-h). It is important to underline that there were no adverse effects reported by the

patients or by medical staff in patient clinical examination.

Treatment with GC and GNN produces changes in metabolism

Regarding glucose level, we found that the treatments reduce it significantly at 3 and 6 months compared with basal levels (Fig. 2a). This reduction was also significant and sustained for cholesterol and triglycerides plasma levels (Fig. 2b, c). These changes in glucose, cholesterol and triglycerides levels, were not related to sex, age, or suffering from the different comorbidities (Fig. 3a-l).



Presence of polymorphism affect weight reduction, mass fat and visceral fat

We wanted to determinate if carry any of the three-studied polymorphism in the different analyzed parameter affected the result of treatment. Patients carriers any of the three polymorphism under study, shown an attenuated reduction in weight at 3 and 6 months (Fig. 4a). Besides, we have found that carriers of FTO polymorphism reduce significant less visceral fat than normal patients at 3 months whereas 6 months carriers of FTO (rs9939609 A/T), PLIN4 (11482G>A) and

ABDR3 (Trp64Arg) polymorphisms reduce significantly less visceral fat than non-carriers (Fig. 4b). Regarding Fat mass (%), we found that patients carriers any of the three polymorphism reduce less fat mass than non-carriers subject at 6 months (Fig. 4c). On the other hand, either glucose, cholesterol, triglycerides, or BMR were not significantly affected by any of the studied polymorphism (Fig. 5a-d).

Discussion

Here, we wanted to expand previous studies in which treatment with GC and GNN were combined to reduce obesity [31]. In this previous study, that was a double blinded randomized study with a placebo and treated group, it was reported that GC and GNN administration reduced cholesterol levels but without affecting anthropometric or calorimetric values. Now, we show that administration of a combined therapy of GC and GNN to 214 people with overweight or obesity and some associated comorbidities such as dyslipidemias, hypertension and DM2, reduce at 3 and 6 months the weight (14 and 16%), fat mass (7 and 12%), visceral fat (9 and 15%), glucose (3 and 6%), cholesterol (8 and 13%), triglycerides (10 and 15.3%) and increase BMR measured by indirect calorimetry (2 and 4%). Several reports support that GC administration reduces weight [34, 35] although other has not found enough evidence [36] or doubt about its long term effects because there are not reported on more than 12 months of administration [26]. These differences, even some reported minor side effects, might be related to the different compositions of available GC extracts and administered doses [37]. On the other hand, GNN has also proved to reduce weight [38] although other studies did not find such association [39]. These differences might be related to variability of patient inclusion criteria in each study, and as in the case of GC to the different composition of Glucomannan extracts used. Of note, it is important to underline that here, the combined treatment, is able to reduce weight, fat mass and visceral fat independently of sex, age and previous diseases without having any adverse effects in the patients which makes this treatment suitable for a broad population segment.

On the other hand, it has been reported that success of obesity therapies has been influenced by individual variability mainly based on differences on life style and genetic background [20, 40]. For these reason, we also aim to study the influence of different polymorphism associated to obesity risk with a treatment with GC and GNN to reduce weight. Thus, the second objective or our work was to determine whether presence of different polymorphism might affect the result of GC and GNN combined treatment. When we analyzed the results by there were an

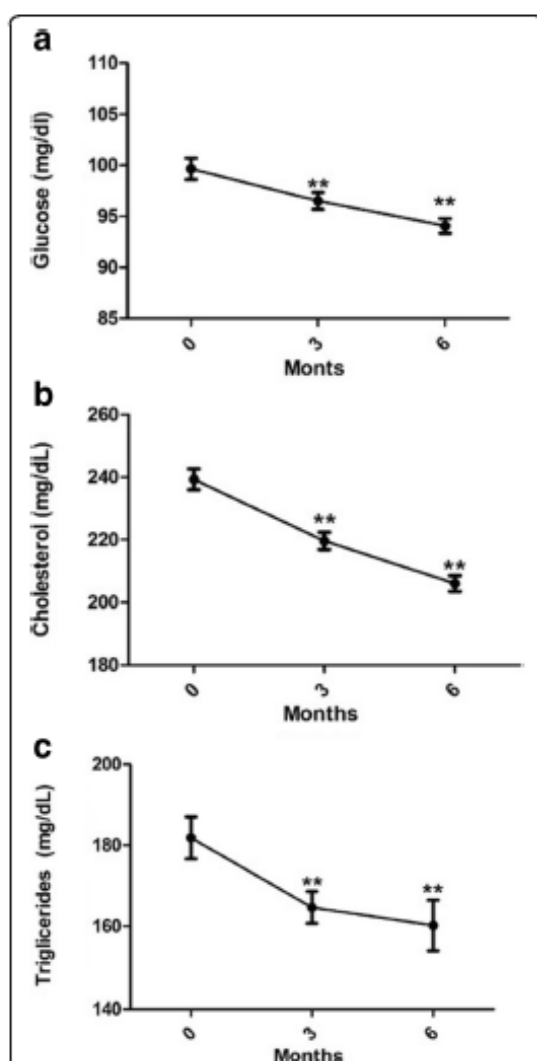


Fig. 2 Effect of GC and GNN on level of metabolic markers. Glucose (a), Cholesterol (b) and Triglycerides (c). **p < 0.01 vs treatment onset (0 months)



5

/ 9



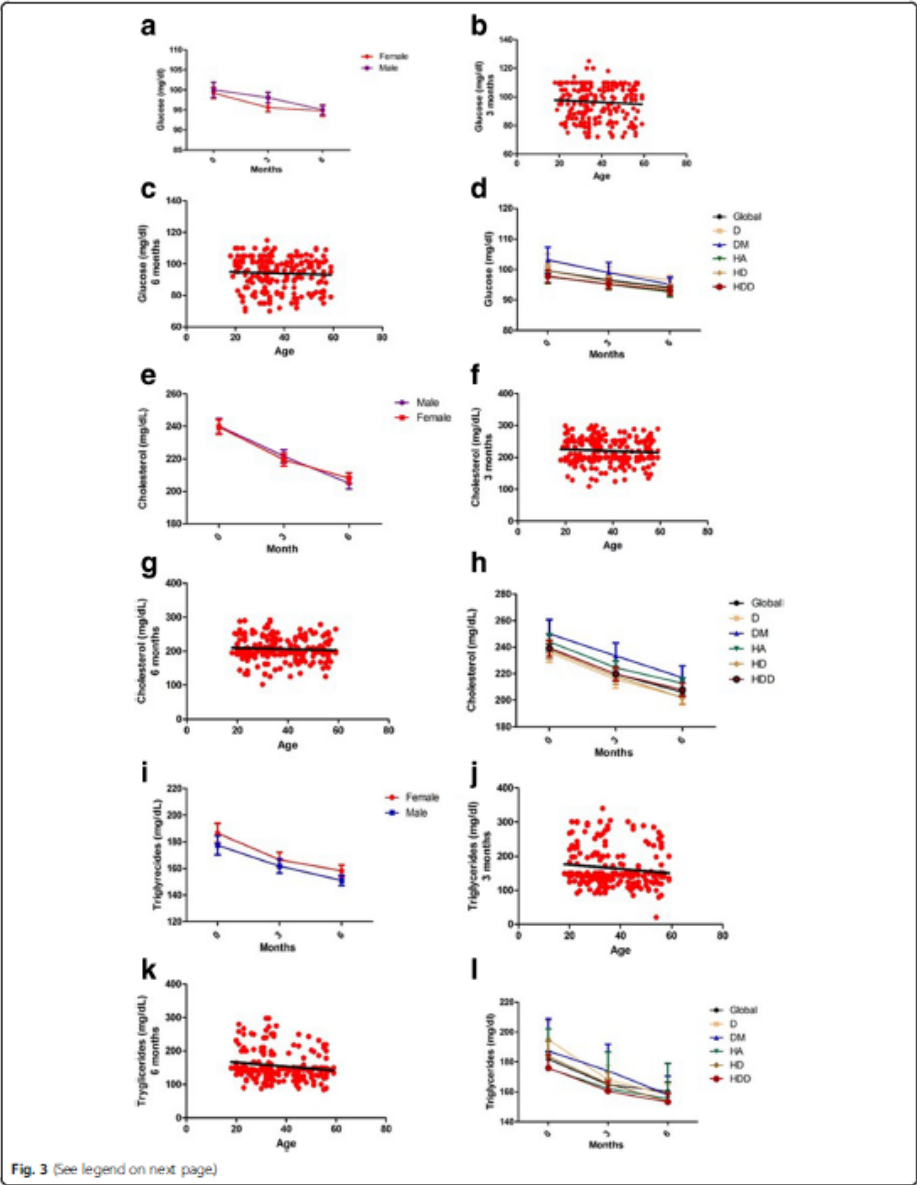
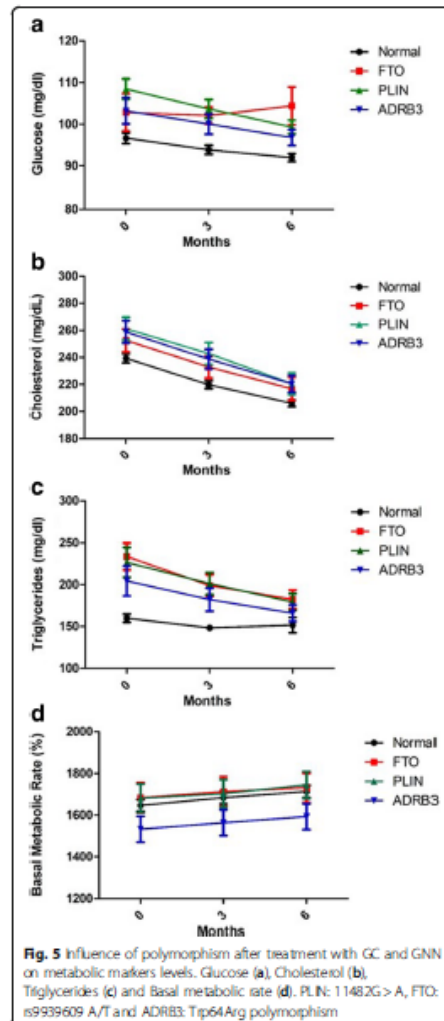
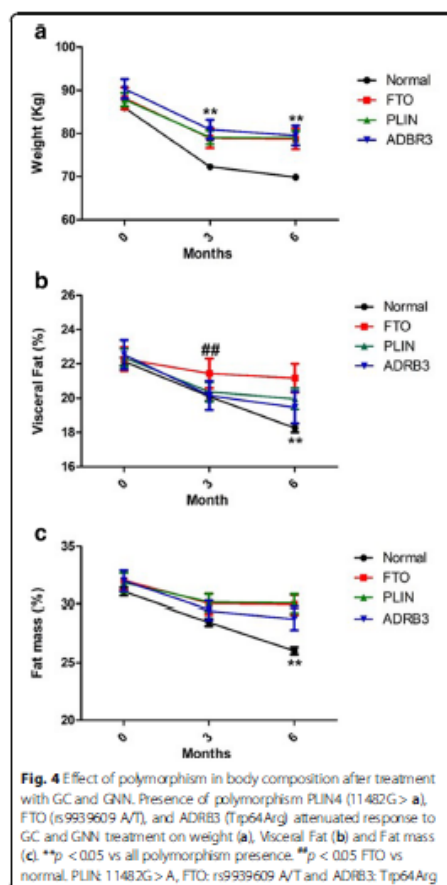


Fig. 3 (See legend on next page.)

(See figure on previous page.)

Fig. 3 Effect of GC and GNN is independent of sex, age and comorbidities. After treatment levels of glucose is not influenced by sex (a), age – 3 months (b), 6 months (c), comorbidities (d). Treatment effects on cholesterol is not influenced by sex (e), age 3 months (f) and 6 months (g) or comorbidities (h). Also, GC and GNN effect on triglycerides level are not influenced by sex (i), age 3 months (j) and 6 months (k) or comorbidities (l). D: Dyslipidemias, DM: Diabetes mellitus type 2, H: Hypertension, HD: Hypertension and Dyslipidemias, HDD: hypertension, dyslipidemias and diabetes mellitus type 2

attenuated weight reduction, visceral fat and fat mass in carriers of *FTO* (rs9939609 A/T), *PLIN4* (11482G > A) and *ADRB3* (Trp64Arg) polymorphism at the two different times. Polymorphisms in *PLIN* and *ADRB3* use to produce alteration in lipolysis mechanism (i.e. decreasing it) [41] whereas treatment with GC and GNN have demonstrated to produce loss weight particularly



increasing lipolysis [42]. Thus, it would be reasonable to hypothesize that a reduction in lipolysis rate in patients with these polymorphisms might have hampered the lipolysis effect trigger by GC and GNN influencing the outcome of the treatment.

PLIN gene codified perilipin 1 protein that is phosphorylated by protein kinase A. Perilipin 1 phosphorylation facilitates the action of hormone sensitive lipase, an enzyme that play a key role in lipolysis. Several polymorphisms in this gene has been associated to obesity [41, 43]. Thus, patients carriers of *PLIN1* (6209 T > C; rs2289487) and *PLIN6* (14995A > T; rs1052700) polymorphism have shown to response better to anti-obesity treatment [16]. On the contrary, and in agreement with our results, those patients carriers of *PLIN4* (11482G > A) response worse to weight loss treatments [44].

Regarding *ADRB3*, this receptor plays an important role in the lipolysis activated by catecholamine signaling. The change Trp64Arg produces that *ADRB3* does not reach the maximal generation of cyclic AMP upon activation and thus reduce lipolysis [45]. Accordingly, in our study, carriers of this polymorphism did not reduce weight, fat mass and visceral fat at the same rate that non-carriers subjects. However, although levels of triglycerides and cholesterol were increase compared with non-carrier patients, these levels did not reach a statistical significance.

On the other hand, *FTO* polymorphism rs9939609 is associated to a low satiety feeling after meals rather than a regulation of basal metabolic rate [45]. Here, we found that patients with this polymorphism does not reduce weight, visceral fat and fat mass as normal patients. These results might be explained because these patients has a tendency to increase calorie intake, hindering treatments effects. Considering that presence of the different polymorphism studied in this work influence the grade of losing weight, fat mass and visceral mass, it would be of the utmost importance to previously known the genetic background of each subject to adjust the treatment (perhaps increasing dose of GC or GNN) to obtain a better outcome.

Conclusions

Taken together these data, we conclude that treatment with GC and GNN of people with overweight or obesity with different sex, age and affected by difference metabolic diseases decrease weight, fat mass, visceral fat, glucose, triglycerides and cholesterol levels together with an increasing basal metabolic rate without having any adverse effect. Given that presence of different polymorphism such as *PLIN4* (11482G > A), *FTO* (rs9939609 A/T) and *ADRB3* Trp64Arg might hamper this beneficial effects, a patient genetic study focus on the presence of these polymorphisms might be advisable previously to

establish a treatment and thus get a better prediction of response treatment.

Additional files

Additional file 1: TREND Statement Checklist. (PDF 1254 kb)
Additional file 2: TREND flowchart. (JPEG 965 kb)

Abbreviations

ADRB3: β -adrenergic receptor 3; BMI: Body Mass index; FTO: Fat mass and obesity-associated; GC: Garcinia cambogia; GNN: Glucosannan

Acknowledgements

Non applicable

Funding

Own resources. Córdoba's University

Availability of data and materials

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Authors' contributions

AM-L, JMR and CL: Design, data collection, Statistical analysis development and manuscript writing. MSP and JLL: Direction, supervision and coordination. AM-L, JMR, CL, MSP and JLL have read and approved of the final version of the manuscript.

Ethics approval and consent to participate

All patients were informed and signed the proper informed consent. This work was in accordance with Helsinki declaration and was approved by Ethical Boards of Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba (Spain) and Hospital e Maternidade São Francisco de Assis, Crato (Brasil).

Consent for publication

Non applicable

Competing interests

We wish to confirm that authors do not have any conflicts of interest associated with this publication and there has been not any significant financial support for this work that could have influenced its outcome.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Author details

¹Department of Morphological Sciences, School of Medicine, University of Córdoba, Avenida de Menéndez Pidal s/n, 14071 Córdoba, Spain. ²Centro de patología cerebral Aspece, camino de Illarra s/n CP, 20018 Donostia/San Sebastián, Guipúzcoa, Spain.

Received: 20 September 2017 Accepted: 17 January 2018

Published online: 24 January 2018

References

- WHO. Obesity and overweight. 2012.
- Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, Danaei G, Lin JK, Paciorek CJ, et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet* (London, England). 2011;377:557–67.
- Must A, McKenney NM. The Disease Burden Associated with Overweight and Obesity. *Endotext*. 2000.
- Galle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med*. 2003;348:1625–38.

5. Daniels SR, Arnett DK, Eckel RH, Gidding SS, Hayman LL, Kumanyika S, et al. Overweight in children and adolescents: pathophysiology, consequences, prevention, and treatment. *Circulation*. 2005;111:1999–2012.
6. Garow JS, Webster J. Quetelet's index (BMI) as a measure of fitness. *Int J Obes*. 1985;9:147–53.
7. Bell CG, Walley AJ, Froguel P. The genetics of human obesity. *Nat Rev Genet*. 2005;6:221–34.
8. McAllister EJ, Dhurandhar NV, Keith SW, Aronne LJ, Barger J, Baskin M, et al. Ten putative contributors to the obesity epidemic. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2009;49:868–913.
9. Madrigano J, Baccarelli A, Wright RQ, Suh H, Sparrow D, Vokonas PS, et al. Air pollution, obesity, genes, and cellular adhesion molecules. *Occup Environ Med*. 2010;67:312–7.
10. Cummings DE, Schwartz MW. Genetics and pathophysiology of human obesity. *Annu Rev Med*. 2003;54:453–71.
11. Wadell J, Camell S, Haworth CM, Plomin R. Evidence for a strong genetic influence on childhood adiposity despite the force of the obesogenic environment. *Am J Clin Nutr*. 2008;87:396–404.
12. Kaur Y, de Souza RJ, Gibson WT, Meyre D. A systematic review of genetic syndromes with obesity. *Obes Rev*. 2017;18:603–34.
13. Gerken T, Grand CA, Tung H-C, Webb CJ, Saudik V, Hewison KS, et al. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science*. 2007;318:1469–72.
14. Qi Q, Kipaleinen TO, Downer MK, Tanaka T, Smith CE, Sluijs I, et al. FTO genetic variants, dietary intake and body mass index: insights from 177 330 individuals. *Hum Mol Genet*. 2014;23:6961–72.
15. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*. 2007;316:889–94.
16. Qi L, Corella D, Sorli JV, Portolés O, Shen H, Coltell O, et al. Genetic variation at the perlipin (PLIN) locus is associated with obesity-related phenotypes in white women. *Clin Genet*. 2004;66:299–310.
17. Montagu-Tabar S, Rydén M, Löfgren P, Faulds G, Hoffstedt J, Brookes AJ, et al. Evidence for an important role of perlipin in the regulation of human adipocyte lipolysis. *Diabetologia*. 2008;51:789–97.
18. Bassemir DL, Rubin B, Harten JA, Guile-Guy J, Kimmel AR, London C. Perlipin 1 increases triacylglycerol storage by decreasing the rate of triacylglycerol hydrolysis. *J Biol Chem*. 2000;275:38486–93.
19. Clément K, Vaisse C, Manning BS, Basdevant A, Guy-Gonard B, Ruiz J, et al. Genetic variation in the beta 3-adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *N Engl J Med*. 1995;333:352–4.
20. MacLean PS, Wing RR, Davidson T, Epstein L, Goodpaster B, Hall KD, et al. NIH working group report: innovative research to improve maintenance of weight loss. *Obesity*. 2015;23:7–15.
21. Preuss HG, Bagchi D, Bagchi M, Rao CV, Dey DK, Satyanarayana S. Effects of a natural extract of (–)-hydroxylic acid (HCA-SK) and a combination of HCA-SK plus niacin-bound chromium and Gymnema Sylvestre extract on weight loss. *Diabetes, Obes, Metab*. 2004;6:171–80.
22. Ramos R, Sanz S, Aguilar S. Extract of *Garcinia cambogia* in the control of obesity. *Invest Med Int*. 1995;22:97–100.
23. Toromanian E, Adeniyi G, Amoyan E, Gabrielyan E, Panossian A. Efficacy of Slim339 in reducing body weight of overweight and obese human subjects. *Phytother Res*. 2007;21:1177–81.
24. Groia M, De Bernardi M, Contos S. Dose effect in lipid-lowering activity of a new dietary integrator (Chitosan, *Garcinia cambogia* extract, and chrome). *Acta Toxicol Ther*. 1996;17:25–40.
25. Birkvedt G, Shimshi M, Thom E, Florholmen J. Experiences with three different fiber supplements in weight reduction. *Med Sci Monit*. 2005; 11:5–8.
26. Márquez F, Babio N, Buló M, Salas-Salvado J. Evaluation of the safety and efficacy of hydroxylic acid or *Garcinia cambogia* extracts in humans. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2012;52:585–94.
27. Lyon MR, Reichert RG. The effect of a novel viscous polysaccharide along with lifestyle changes on short-term weight loss and associated risk factors in overweight and obese adults: an observational retrospective clinical program analysis. *Altern Med Rev*. 2010;15:68–75.
28. Corella M, Marchini G. [evaluation of the action of glucocorticoids on metabolic parameters and on the sensation of satiety in overweight and obese patients]. *Clin. Ter*. 1995;146:269–74.
29. Deutenberg P, van der Kooy K, Leenen R, Weststrate JA, Seidell JC. Sex and age specific prediction formulas for estimating body composition from bioelectrical impedance: a cross-validation study. *Int J Obes*. 1991;15:17–25.
30. WEIR JB. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J Physiol*. 1949;109:1–9.
31. Vasques CAR, Rossetto S, Halmenschläger G, Linden R, Hedeker E, Fernandez MSP, et al. Evaluation of the pharmacotherapeutic efficacy of *Garcinia cambogia* plus *Amorphophallus konjac* for the treatment of obesity. *Phyther Res*. 2008;22:1135–40.
32. Bynon N, Nasibulina ES, Banting LK, Gieszyk P, Maciejewska-Karlowska A, Sawczuk M, et al. The FTO A/T polymorphism and elite athletic performance: a study involving three groups of European athletes. *PLoS One*. 2013;8:e60570.
33. Widén E, Lehto M, Kanninen T, Wälstam J, Shuldiner AR, Groop LC. Association of a polymorphism in the β 3-adrenergic-receptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns. *N Engl J Med*. 1995;333: 348–52.
34. Sun N-N, Wu T-Y, Chou C-F. Natural dietary and herbal products in anti-obesity treatment. *Molecules*. 2016;21:1351.
35. Semwal RB, Semwal DK, Verma I, Vijayan A. A comprehensive scientific overview of *Garcinia cambogia*. *Fitoterapia*. 2015;102:134–48.
36. Heymsfield SB, Allison DB, Vaselli JR, Pietrobelli A, Greenfield D, Nunez C. *Garcinia cambogia* (hydroxylic acid) as a potential antiobesity agent: a randomized controlled trial. *JAMA*. 1996;280:1596–600.
37. Chuah LQ, Ho WY, Beh BK, Yeap SK. Updates on Antiobesity effect of *Garcinia* origin (–)HCA. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013: 751658.
38. Sood N, Baker WL, Coleman CL. Effect of glucocorticoids on plasma lipid and glucose concentrations, body weight, and blood pressure: systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2008;88:1167–75.
39. Onalpoja I, Posadzki P, Ernst E. The efficacy of glucocorticoid supplementation in overweight and obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *J Am Coll Nutr*. 2014;23:70–8.
40. Bray GA, Wadden TA. Improving long-term weight loss maintenance: can we do it? *Obesity (Silver Spring)*. 2015;23:2–3.
41. Luglio HF, Sulistyoningrum DC, Susilowati R. The role of genes involved in lipolysis on weight loss program in overweight and obese individuals. *J Clin Biochem Nutr*. 2015;5:791–7.
42. Sethi A. A review on “*Garcinia cambogia* – a weight control in gagent”. *IJPRD*. 2011;3:13–24.
43. Smith CE, Odorov JS JM. Update on perlipin polymorphisms and obesity. *Nutr Rev*. 2012;70:681–21.
44. Corella D, Qi L, Sorli JV, Godoy D, Portolés O, Coltell O, et al. Obese subjects carrying the 11482G>A polymorphism at the perlipin locus are resistant to weight loss after dietary energy restriction. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90: 5121–6.
45. Candelore MR, Deng L, Tota LM, Kelly LJ, Cascieri MA, Strader CD. Pharmacological characterization of a recently described human beta 3-adrenergic receptor mutant. *Endocrinology*. 1996;137:2638–41.

Submit your next manuscript to BioMed Central and we will help you at every step:

- We accept pre-submission inquiries
- Our selector tool helps you to find the most relevant journal
- We provide round the clock customer support
- Convenient online submission
- Thorough peer review
- Inclusion in PubMed and all major indexing services
- Maximum visibility for your research

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



